

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ANNÉE 1921-1922.

THÈSE

N° 8

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le

1922

LOUIS BOUTOT

Pharmacien de 1^{re} classe

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS

au moyen des liqueurs cupro-alcalines

JURY	{	MM. GRIMBERT, <i>Président.</i>
		BOUGAULT, <i>Professeur.</i>
		DAMIEN, <i>Agrégé.</i>

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1922

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ANNÉE 1921-1922.

THÈSE

N° 8

pour l'obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le

1922

LOUIS BOUTOT

Pharmacien de 1^{re} classe

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS

au moyen des liqueurs cupro-alkalines



JURY

MM. GRIMBERT, *Président.*
BOUGAULT, *Professeur.*
DAMIEN, *Agrégé.*

PARIS
LIBRAIRIE LE FRANÇOIS

91, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 91

1922

PERSONNEL DE LA FACULTE DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. H. GAUTIER, *Doyen*, O. ✱, ☼ I.
RADAIS, *Assesseur*, ✱, ☼ I.
G. DURSENT, *Secrétaire*, ✱, ☼ I.

PROFESSEURS

MM. GUIGNARD, Membre de l'Institut, C. ✱, ☼ I.	Botanique Générale.
VILLIERS, ✱, ☼ I.	Chimie analytique.
H. GAUTIER, O. ✱, ☼ I.	Chimie minérale.
RADAIS, ✱, ☼ I.	Cryptogamie.
BEHAL, Membre de l'Institut, C. ✱, ☼ I. ..	Chimie organique.
PERROT, O. ✱, ☼ I.	Histoire Naturelle des Médicaments.
COUTIERE, ✱, ☼ I.	Zoologie.
BERTHELOT, Membre de l'Institut, ☼ I. ...	Physique.
GRIMBERT, ✱, ☼ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. ✱, ☼ I.	Pharmacie chimique.
GUERBET, ☼, I.	Toxicologie.
DELEPINE, ✱, ☼ I.	Hydrologie et Hygiène.
BOUGAULT, ☼ I.	Pharmacie galénique.

Doyen honoraire : M. GUIGNARD, C. ✱, ☼ I.

Professeur honoraire : M. MOUREU, O. ✱, ☼ I.

CHARGES DE COURS

MM. TASSILY, ✱, ☼ I.	Minéralogie.
MARC HONNORAT, ✱, ☼ I.	Législation et Déontologie pharmac.
GUÉRIN, ☼ O. I.	Cryptogamie.

AGREGES EN EXERCICE

MM. SOMMELET, ☼ I.	MM. GUÉRIN, ☼ I.	MM. LAUNOY, ✱, ☼ A.
DAMIENS, ☼ A.	LUTZ, ☼ I.	HERISSEY, ✱, ☼ I.
TASSILY, ✱, ☼ I.	GORIS, ✱, ☼ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, ✱, ☼ I.	Chimie générale.
COUSIN, ☼ I.	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☼ A.	Micrographie.
LEROUX, ☼ I.	Physique.
DEVAL, ☼ I.	Microbiologie.
JAVILLIER, ✱, ☼ I.	Travaux généraux de 4 ^e année.

Chef du Laboratoire des Examens pratiques : M. JAVILLIER, ✱, ☼ I.

Bibliothécaire en Chef : M. DORVEAUX, ☼ I.

A MES PARENTS

A MA FEMME

A MON FILS

A MA FAMILLE ET A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. GRIMBERT

Membre de l'Académie de Médecine,

Chevalier de la Légion d'Honneur.

Hommage de respectueuse reconnaissance.

Avant de commencer l'exposé de cette étude qu'il nous soit permis de remercier ici tout particulièrement :

M. le Professeur GRIMBERT, dans le laboratoire et sur les indications de qui fut entreprise cette thèse à la soutenance de laquelle il nous a fait l'honneur de présider.

M. le Professeur BRINDEAU, qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire à la Clinique obstétricale de la Pitié, et nous a ainsi permis de mener à bien la partie de notre étude relative aux liquides de l'organisme.

M. le Docteur René CLOGNE, Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine, dont l'amitié nous fut en toutes circonstances si précieuse.

Enfin M. Paul Fleury, Pharmacien en chef des Asiles de la Seine, préparateur à la Faculté de Pharmacie, à la science et aux conseils de qui nous devons rapporter une bonne part du mérite qui s'attache à ce modeste travail.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INTRODUCTION

Parmi les renseignements que demande la clinique au laboratoire, le dosage des sucres réducteurs dans les liquides de l'organisme, notamment dans le sang, a pris ces dernières années une place importante.

Depuis les travaux de Claude Bernard, en effet, de nombreuses études ont été faites et sont encore poursuivies sur la présence des substances sucrées dans le corps humain : études sur le sucre libre et le sucre virtuel ou protéidique du sang (Lépine et Boulud, Pavy, Bierry et Portier, etc.), — études sur les rapports entre la glycémie et la glycosurie, entre la glycémie et l'acétonurie (Chabanier, etc.), — études sur le seuil d'élimination du glucose, sur la glycémie critique et l'acétonurie provoquée (Ambard, Chabanier, etc.), — travaux de toutes sortes qui sont pour la plupart une contribution à l'étude de la vaste question du diabète.

Pour toutes ces recherches, qui sont appelées à rendre d'importants services à la clinique, des méthodes de plus en plus rigoureuses de dosage des sucres sont nécessaires.

Or, le pouvoir réducteur des sucres, sur lequel sont basées la plupart des méthodes utilisées actuellement, étant très variable selon les circonstances et d'autre part assez mal connu, il arrive que les résultats obtenus diffèrent sensiblement suivant la technique employée.

C'est pour cette raison sans doute, — le défécant utilisé ayant aussi une assez notable influence, — que les chiffres donnés par exemple comme taux moyen du sucre dans le sang de l'homme normal diffèrent suivant les auteurs : 0 gr. 85 d'après Lépine, 0 gr. 96 d'après Grigaut, Brodin et Rouzaud, 1 gr. 10 d'après Gilbert et Beau-douin, etc.

Pour le dosage des fortes quantités de sucres réducteurs, — par exemple le glucose des urines diabétiques, le lactose du lait, — on utilise à peu près exclusivement la méthode polarimétrique et la méthode de Fehling ou la modification qu'en ont donné Causse et Bonnans.

Pour les faibles quantités de sucres, — celles contenues dans le sang, par exemple, ou dans le liquide céphalo-rachidien, — il en va tout autrement.

Nombreuses en effet sont les méthodes qui ont été proposées pour de tels dosages, chacune comprenant un défécant spécial, une technique différente.

Aussi nous a-t-il semblé utile d'étudier en détail quelques-unes de ces méthodes parmi les plus récentes ou les plus couramment employées, afin de déterminer celles d'entre elles qui, par leur précision et leur simplicité, sont susceptibles d'être proposées comme méthodes de choix.

La première partie de notre travail est consacrée à l'exposé des principales méthodes de dosage des sucres, limité, en raison de l'étendue du sujet, à celles qui sont basées sur la réduction de liqueurs cupro-alkalines.

Dans la seconde et la troisième partie nous étudions, avec le plus de détails possible, deux de ces méthodes qui nous ont paru répondre le mieux aux conditions cherchées : une méthode colorimétrique, celle de Folin et Wu, avec ses modifications ; une méthode volumétrique, celle de Lehmann modifiée par Bruhns, Schoorl et Kolthoff, que nous appliquons, après l'avoir étudiée, aux liquides de l'organisme.

PREMIERE PARTIE

Description des principales méthodes

Notre étude ayant trait particulièrement au dosage des sucres réducteurs dans les liquides de l'organisme, il nous faut tout d'abord dire un mot de la préparation de ces liquides.

PREPARATION DU LIQUIDE A DOSER :

Quelle que soit en effet la méthode employée, on ne peut pratiquer le dosage que sur un liquide déféqué, c'est-à-dire débarrassé des substances albuminoïdes et des autres corps qui pourraient agir sur la réaction et fausser les résultats.

Il n'est pas de technique générale de défécation. Presque chaque auteur en effet en indique une particulière utilisant des réactifs différents.

A vrai dire, comme c'est surtout le dosage du sucre du sang que l'on a en vue, les auteurs ne se sont, la plupart du temps, préoccupé que de la défécation de ce milieu.

Nous décrirons les techniques de défécation en même temps que les méthodes de dosage qu'elles accompagnent.

Dans le cas particulier où l'on opère sur le sang, il est un traitement préalable, commun à toutes les méthodes, qu'il est nécessaire de lui faire subir : l'adjonction à ce sang, dès sa sortie de la veine, d'un corps qui arrête la glycolyse.

Certains auteurs ont indiqué, dans ce but, de recueillir le sang dans l'alcool absolu, d'autres d'y ajouter du fluorure de sodium, d'autres du citrate de soude. Il résulte de récentes expériences de Clogne et Richaud [Bibl. 1] que les meilleurs résultats sont obtenus avec le fluorure de sodium finement pulvérisé ou, mieux, avec un mélange de fluorure de sodium et de phosphate monopotassique suivant la technique de Rona et Wilenko modifiée par Ambard [B. 2].

Dans ce dernier cas on recueille le sang, au sortir de la veine, dans un récipient contenant un mélange de 1 partie de fluorure de sodium pour 2 parties de phosphate monopotassique, à raison de 15 grammes par litre de sang, — et on agite, pour dissoudre, avec une baguette de verre.

CLASSIFICATION DES METHODES :

On pourrait simplement les classer en méthodes volumétriques et méthodes colorimétriques.

Nous préférons, pour la clarté de cette étude, les ranger suivant les principes sur lesquels elles reposent; et nous adoptons la classification suivante qui a été donnée dans un article de la Biologie Médicale [B. 3].

1° Les méthodes basées sur la réduction de liqueurs cupro-alcalines.

2° Les méthodes basées sur la réduction d'autres corps,

— que ce soient des sels de mercure (Knapp) ou des sels d'argent (Henderson), l'acide picrique (Lewis et Benedikt) ou le bleu de méthylène (Hertzfeld).

3° Les méthodes basées sur l'oxydation du glucose par l'iode en milieu alcalin (Bougault et Perrier).

Dans ce travail, comme nous l'avons dit en commençant, nous n'étudierons que les premières.

Méthodes basées sur la réduction de liqueurs cupro-alcalines

Le glucose présente la propriété de donner à chaud, aux dépens d'une solution alcaline d'hydrate d'oxyde de cuivre, un précipité d'oxydure de cuivre. On dit que le glucose réduit les solutions cupro-alcalines.

Cette propriété a été découverte en 1844 par Barreswill [B. 4] et appliquée par lui et, plus tard, par Fehling [B. 6-7] à la détermination d'un certain nombre de matières sucrées.

La technique employée pour le dosage du sucre dans l'urine et qui consiste, — nous le rappelons ici en deux mots, — à faire tomber goutte à goutte la solution sucrée dans une quantité connue de liqueur cupro-alcaline titrée d'avance et portée à l'ébullition, jusqu'à décoloration de la liqueur, n'est pas applicable au dosage de petites quantités de sucres réducteurs, — si ce n'est en utilisant la méthode par différence signalée par Grimbert [B. 5].

La quantité de sucre étant donc insuffisante à réduire la totalité de la liqueur cupro-alcaline employée, on se trouve en présence de deux séries de méthodes : l'une qui repose sur le dosage direct de l'oxydure formé et l'autre sur le dosage du sel cuivrique en excès d'où, connaissant

le cuivre total, on déduit la quantité de sel cuivrique réduit par le sucre.

Le tableau ci-dessous groupe les principales méthodes types proposées d'après la réaction qui leur sert de base. Ces méthodes ont subi pour la plupart des modifications que nous étudierons au fur et à mesure.

A. - *Dosage direct de l'oxyde cuivreux :*

	TYPES	VARIANTES
a) En utilisant les propriétés réductrices de l'oxydule sur :		
I. Le sulfate ferrique	Mohr-Bertrand...	{ de Saint-Rat et Ronfaut. Ch.-O. Guillaumin. Ambard.
II. L'acide iodique....	Bang.....	{ Gardner et Maclean. Shaffer et Hartmann.
III. L'acide molybdique en solution phosphorique	Folin et Wu....	{ Borde. Ch.-O. Guillaumin. Fontès et Thivolle.
b) Après transformation en sel cuivrique, formation de ferrocyanure colloïdal	Goffon et Nepveux	

B. - *Dosage de l'excès de de sel cuivrique :*

a) Par la méthode cupro-cyanimétrique	Bauzil et Boyer.	
b) Par la méthode iodométrique	Lehmann.....	{ Riegler. Garnier. Maquenne. Grimbert. Bruhns. Schoorl et Koltthoff.

**A. — Méthodes basées sur le dosage direct
de l'oxydule de cuivre**

MÉTHODE DE MOHR-BERTRAND [B. 8-9-10].

Principe : L'oxydule de cuivre obtenu dans la réduction d'une liqueur cupro-alcaline par le sucre est dissous dans une solution de sulfate ferrique. Il se forme une quantité correspondante de sulfate ferreux que l'on titre au moyen d'une solution de permanganate.

Solutions employées :

1° Liqueur cupro-alcaline, en 2 solutions :

Solution A :	{	Sulfate de cuivre pur ..	40 gr.
		Eau distillée qs p ^r	1.000 cm ³
Solution B :	{	Sel de Seignette (tartrate de soude et de potasse).....	200 gr.
		Soude caustique en plaques	150 gr.
		Eau distillée qs p ^r	1.000 cm ³

Pour l'emploi on mélange un volume égal de ces deux solutions.

2° Liqueur ferrique :

Sulfate ferrique.....	50 gr.
Acide sulfurique.....	200 gr.
Eau distillée qs p ^r	1.000 cm ³

3° Liqueur permanganique : (1)

Permanganate de potasse..... 5 gr.

Eau distillée qs p^r..... 1.000 cm³

La liqueur ferrique ne doit pas réduire le permanganate, sinon on y verse goutte à goutte de la solution permanganique jusqu'à très légère coloration rose.

Technique : Dans une fiole conique de 125 à 150 cm³ de capacité on verse 20 cm³ de solution A, 20 cm³ de solution B et 20 cm³ de solution sucrée pouvant renfermer de 10 à 100 milligrammes de sucre réducteur. On porte à l'ébullition qu'on maintient exactement 3 minutes. On retire la fiole du feu, on laisse déposer l'oxydure et on passe le liquide surnageant à travers un filtre d'amiante fixé sur une fiole à filtration par le vide. On lave le précipité avec de l'eau distillée bouillie et chaude, on laisse reposer encore une fois et on décante le liquide surnageant sur le filtre.

La fiole à filtration est alors vidée et rincée et le filtre est remis en place. On dissout l'oxydure de cuivre dans

(1) *Titrage de la liqueur permanganique* :

On peut utiliser pour ce titrage l'oxalate d'ammoniaque. On en pèse très exactement une quantité voisine de 250 milligrammes qu'on dissout dans 100 cm³ d'eau additionnés de 1 à 2 cm³ d'acide sulfurique. On chauffe vers 60-80° et l'on verse la solution permanganique jusqu'à coloration rose.

En multipliant le poids d'oxalate par 0,8951 on a la quantité de cuivre qui correspond au volume de la solution permanganique employé. On détermine ainsi la quantité de cuivre à laquelle correspond 1 cm³ de liqueur permanganique.

En chiffres ronds 1 litre de liqueur équivaut à 10 grammes de cuivre.

L'oxalate de soude, sel anhydre, constitue également, comme l'a montré Sørensen, un excellent étalon. Il présente l'avantage de se prêter à un contrôle facile au point de vue pureté; on y peut doser en effet pondéralement le sodium sous forme de SO⁴Na².

la liqueur ferrique ajoutée peu à peu en remuant. La solution verte obtenue est jetée sur le filtre où elle dissout la petite quantité d'oxydule qui y avait été retenue. Lorsque tout l'oxydule est dissous on lave la fiole conique et le filtre avec de l'eau distillée.

On titre enfin le liquide rassemblé dans la fiole à filtration au moyen de la solution de permanganate. Le virage, constitué par un passage du vert au rose, est très net.

Connaissant le titre en cuivre de la solution de permanganate, on a tout de suite la quantité de sel cuivrique réduite par le sucre contenu dans la prise d'essai.

La quantité de cuivre réduit n'étant pas proportionnelle au sucre réducteur, Bertrand a établi des tables de correspondance pour chacun des principaux sucres, auxquelles on se reporte pour avoir, par simple lecture, la quantité de sucre mise en jeu.

APPLICATIONS DE LA MÉTHODE BERTRAND :

Dosage du sucre dans le sang : Cette méthode demande environ 25 cm³ de sang.

Le sang étant recueilli sur fluorure comme nous l'avons dit plus haut, on en mesure exactement 25 cm³ dans un verre à pied et on y verse goutte à goutte en agitant 125 cm³ d'alcool à 96°. Après 10 minutes de contact on filtre à la trompe ou on centrifuge; on détache le résidu, on le délaie dans 25 cm³ d'alcool à 80° et on essore de nouveau. Ce lavage est répété encore une fois. Les liquides alcooliques réunis sont alors distillés dans le vide jusqu'à réduction à 15 cm³ environ.

On verse dans une fiole jaugée de 25 cm³, on lave le

ballon avec quelques centimètres cubes d'eau que l'on ajoute au contenu de la fiole; puis on verse dans celle-ci, goutte à goutte, de la solution de sulfate mercurique (1) de manière à déféquer le liquide. On agite; on neutralise exactement avec de la soude à 10 %; on ajoute I goutte d'acide acétique pour rendre la réaction très légèrement acide; puis on complète au volume de 25 cm³ avec de l'eau distillée et on mélange bien.

Le liquide est filtré et le filtrat agité avec une pincée de poudre de zinc pendant 10 minutes de manière à enlever tout le mercure en solution. On s'assure que la précipitation du mercure est totale en vérifiant qu'une goutte de liquide déposée sur une lame de cuivre rouge fraîchement décapée ne produit pas de tache grise.

Le liquide est alors filtré. Sur 20 cm³ de filtrat on dose le glucose par la méthode décrite ci-dessus.

Dosage du lactose dans le lait :

A 50 cm³ de lait on ajoute en agitant 5 cm³ de solution de sulfate mercurique. On neutralise avec de la lessive de soude; on acidifie avec I goutte d'acide acétique. On complète à 100 cm³ avec de l'eau distillée et on filtre. On agite avec de la poudre de zinc pour chasser le mercure et on filtre.

Sur 20 c. de filtrat on dose le lactose par la méthode de Bertrand.

De la quantité de cuivre réduit on déduit la quantité de lactose contenue dans la prise d'essai en se reportant au tableau de Bertrand.

(1) La solution de sulfate mercurique se prépare en faisant dissoudre au bain-marie 350 gr. de ce sel dans un mélange de 120 cm³ d'acide sulfurique concentré et 750 cm³ d'eau. On complète ensuite à 1 litre.

MODIFICATIONS DE LA MÉTHODE DE BERTRAND

La méthode de Bertrand ne s'appliquant qu'au dosage de quantités de sucres supérieures à 10 mgr. nécessite, dans le cas du sang, par exemple, ou du liquide céphalo-rachidien, une trop grande quantité de ces liquides.

Aussi différents auteurs ont-ils récemment cherché à appliquer cette méthode aux quantités de sucre inférieures à 10 mgr.

TECHNIQUE DE L. DE SAINT-RAT ET J. RONFAUT : [B. 11]

On mélange dans un tube à essai de 40 cm³ environ : 5 cm³ de solution cuivrique de Bertrand, 5 cm³ de solution alcaline et 5 cm³ de solution sucrée (contenant moins de 10 mgr. de sucre).

On bouche le tube et on le porte au bain-marie bouillant où on le maintient 20 minutes.

Pour recueillir l'oxydure les auteurs emploient le dispositif suivant, analogue à celui employé par Pregl en analyse microchimique : à la partie supérieure d'un tube à amiante préparé comme l'indique G. Bertrand [B. 9-10], un bouchon traversé par un tube de faible diamètre coudé deux fois à angle droit et possédant une longueur suffisante pour plonger au fond du tube à essai dans lequel on a opéré la réduction.

Le tube à amiante étant monté sur une fiole conique à filtration par le vide d'une capacité de 60 cm³ environ, on fait passer, par une légère aspiration, liquide et précipité sur le filtre d'amiante. L'oxydure de cuivre ainsi recueilli est lavé par aspiration avec de l'eau distillée

bouillie. La fiole est vidée et rincée. Puis on fait passer par aspiration 10 cm³ de liqueur ferrique de Bertrand ajoutés en deux fois pour dissoudre l'oxydure rassemblé sur le filtre. On lave par le même procédé le tube à essai et le filtre avec de l'eau distillée en ayant soin de ne pas dépasser un volume total de 40 cm³. On dose ensuite le sel ferreux avec une solution titrée de permanganate de potasse, environ N/50.

Les auteurs ont déterminé au moyen de cette méthode les quantités de cuivre correspondant à des quantités de glucose allant de 0 mgr. 5 à 10 mgr. Voici le tableau qu'ils ont établi :

Glucose anhydre en mgr.	Cuivre en mgr.	Glucose anhydre en mgr.	Cuivre en mgr.
—	—	—	—
0	0,78	5	11
0,5	1,83	6	13,20
1	2,80	7	15
2	4,86	8	16,87
2,5	5,96	9	18,60
3	6,95	10	20,44
4	8,89		

Cette technique s'applique au sang, au liquide céphalo-rachidien, à l'urine.

TECHNIQUE DE CH. O. GUILLAUMIN [B. 12] :

Cet auteur en 1920 a apporté deux modifications principales à la méthode de Bertrand (1) : il remplace le chauff-

(1) L. Ambard [B. 14], vers la même époque, a signalé une technique à peu près identique. Mais celle de Guillaumin étant détaillée d'une façon plus complète, nous la reproduisons de préférence à celle-ci.

fage à feu nu assez irrégulier par le chauffage au bain-marie toujours constant, et la filtration par une centrifugation.

Voici la technique qu'il propose :

Dans un tube pour centrifugeur de 45 à 60 cm³ de contenance il verse 10 cm³ de solution A de Bertrand, 10 cm³ de solution B et 20 cm³ de solution sucrée (pouvant renfermer de 0 mgr. 5 à 40 mgr. de sucre réducteur). Il opère la chauffe de la manière suivante : Verser dans une vulgaire boîte de fer blanc, qui servira de marmite, 100 à 120 cm³ d'eau. La boîte est munie d'un couvercle percé d'un petit trou pour assurer l'échappement de la vapeur. On dispose à l'intérieur de la boîte le ou les tubes à chauffer placés eux-mêmes dans un panier en fil de fer ayant des pieds assez hauts pour que le fond des tubes de verre ne soit pas plongé dans l'eau en ébullition au début de la chauffe afin d'éviter les éclatements.

La boîte munie de son couvercle est placée sur un Bunsen à flamme modérée. L'eau entre en ébullition 2 à 3 minutes après le début : afin d'avoir un repère fixe pour déterminer le début de la chauffe des tubes on promène légèrement le doigt sur le couvercle dès que la vapeur s'échappe, jusqu'à ce qu'on ait nettement une sensation de brûlure dans cet effleurement. A compter de cet instant on remarque que la température du tube monte régulièrement au bout de 2 minutes à 80° au fond et à 90° à la surface du liquide; après 3 minutes, elle atteint respectivement 90° et 95°, et après 4 minutes, uniformément 98°, température qui se maintient jusqu'à la fin.

Après 7 minutes on retire le panier et on refroidit le

tube. Puis on centrifuge pour séparer le précipité cuivreux.

On décante le liquide surnageant au moyen d'une pissette système Ambard (1). On lave le précipité par centrifugation avec de l'eau distillée bouillie. On décante et on titre :

On délaie le précipité dans 5 cm³ d'eau; on ajoute 5 à 10 cm³ de liqueur ferrique de Bertrand; on agite jusqu'à dissolution. Puis on titre, dans le tube même, au moyen de permanganate de potasse N/30 jusqu'à coloration rosée persistant au moins une minute.

Du résultat obtenu on déduit, en se reportant à la table de correspondance que nous reproduisons plus loin (p. 117) la quantité de glucose contenue dans la prise d'essai.

Application au sang :

Ch. O. Guillaumin conseille, étant donné que la perméabilité du globule rouge pour les sucres, sans être nulle, n'est ni rapide ni totale, d'opérer sur le plasma.

Mélanger au mortier 8 cm³ de plasma, 24 cm³ 5 d'eau distillée et 5 cm³ de réactif de Patein. Puis ajouter goutte à goutte 2 cm³ 5 d'une solution de soude à 10 %.

Mélanger et verser le tout dans un tube à centrifuger gradué à 40 cm³. Le liquide surnageant est filtré si nécessaire, puis agité dans un gros tube à essai avec 1 gramme de poudre de zinc pendant 5 minutes sans arrêt. On filtre et on recueille ainsi 22 à 23 cm³ de liquide sensiblement

(1) Pissette où celui des tubes qui descend habituellement jusqu'au fond est tronqué au voisinage du col, tout en ayant 12 à 13 centimètres de plus que la branche extérieure; le tout constitue un siphon facilement amorçable et très maniable.

neutre et débarrassé du mercure sur lequel on opère le dosage par la méthode ci-dessus.

Pour les glycémies normales on peut opérer sur 4 cm³ seulement de plasma, en ayant soin de réduire proportionnellement les volumes de réactif de Patein et de soude, mais en amenant toujours le premier mélange à 40 cm³, avec dosage sur 20 cm³.

Si l'on opère sur le sang total on réduit, pour 8 cm³ de sang et 5 cm³ de R. de Patein, le volume de la soude ajoutée à 2 cm³.

Application aux sérosités et au liquide céphalo-rachidien :

Pour les sérosités, — ascite, plèvre, etc., — on opère le dosage sur 10 cm³ ; on défèque par 5 cm³ de réactif de Patein ; on additionne de soude et on termine comme pour le sang.

Pour le liquide céphalo-rachidien, on en prend 8 à 10 cm³ ; on ajoute 1 cm³ de réactif de Patein ; on mélange. On ajoute 0 cm³ 2 de soude à 10 % et qs. d'eau pour 25 cm³. On filtre ; on élimine le mercure par agitation avec de la poudre de zinc. On filtre et on opère le dosage sur 20 cm³.

MÉTHODE DE GARDNER ET MACLEAN [B. 15-19].

Lorsque, d'après Bang, on acidifie une solution alcaline contenant du cuivre à l'état cuivreux et de l'iodate de potasse, le cuivre cuivreux passe à l'état cuivrique en réduisant une quantité proportionnelle d'iodate. Par conséquent l'iode primitivement libérable par action de

l'acide iodique sur un excès d'iodure de potassium se trouve diminué d'autant.

Si, de plus, la dilution du sel cuivrique et de KI est assez grande, la réaction reversible qui tendrait à ramener le sel cuivrique à l'état cuivreux sous forme de $\text{Cu}^2 \text{I}^2$ n'a pas lieu. Tout se passe alors comme si la réaction



avait lieu dans le sens de la flèche $\longrightarrow$.

De sorte que, en titrant par l'hyposulfite, après acidification, une solution cuivrique contenant de l'iodure et de l'iodate de K et suffisamment diluée, avant et après action du glucose, il doit y avoir diminution de l'iode libéré due à la diminution de la quantité d'iodate qui a été réduit par $\text{Cu}^2 \text{O}$ formé par le glucose.

Technique : 20 cm^3 de solution sucrée (correspondant p. ex. à 1 cm^3 de sang) sont versés avec 3 cm^3 de la solution cupro-alcaline (1) dans une fiole conique de 100 cm^3 qu'on surmonte d'un condensateur à reflux. On chauffe pendant 10 minutes. On refroidit. On ajoute 5 cm^3 d'HCl pur et on agite pendant une demi-minute. On titre aussitôt avec de l'hyposulfite N/250 en présence d'empois d'amidon.

(1) Cette solution a pour formule :

Bicarbonate de K.....	20 gr.
Carbonate de K.....	10 gr.
Solution de SO_4Cu à 5 %.....	15 cm^3
Iodure de K.....	1 gr.
Iodate de K.....	0 gr. 1
Eau distillée q. s. p ^r	100 cm^3

On dissout le bicarbonate dans 50 cm^3 d'eau en chauffant doucement; puis on ajoute le carbonate et ensuite le sulfate de cuivre en agitant. Après que l'effervescence a cessé on ajoute l'iodure et l'iodate. On complète à 100 cm^3 .

On a au préalable titré l'iode total libéré, dans les mêmes conditions, par 3 cm³ de liqueur cupro-alcaline dilués avec 20 cm³ d'eau.

La différence des deux dosages donne l'iode correspondant au cuivre réduit par le glucose. Des tables établies par Maclean donnent directement la quantité de glucose contenue dans la prise d'essai.

Application au sang :

On verse dans 20 cm³ d'eau contenus dans un mortier 1 cm³ de sang; celui-ci va au fond; on rince la pipette avec l'eau surnageante. On mélange. On ajoute 2 cm³ de solution d'acide phosphorique à 5 %. On mélange et on ajoute 15 cm³ de fer dialysé, puis 2 cm³ de solution saturée de sulfate de soude. Le volume ainsi atteint est de 40 cm³. Après avoir bien trituré on filtre. On prélève 20 cm³ de filtrat, correspondant à 0 cm³ 5 de sang, sur lesquels on opère le dosage.

MÉTHODE DE P.-A. SHAFFER ET A.-F. HARTMANN [B. 16] :

Cette méthode repose sur le même principe que la précédente. Mais alors que dans celle-ci le sens de la réaction



est obtenu grâce à une grande dilution, Shaffer et Hartmann arrivent au même résultat, avec une dilution moins considérable, par l'emploi d'oxalate de K, dont Elbs a signalé récemment l'action. Le sel cuivrique paraît engagé dans une sorte de complexe avec l'oxalate et ainsi éliminé du champ de la réaction.

Technique : Mesurer 5 cm³ de réactif cupro-alcalin dans

un tube à essai (1) et un égal volume de solution sucrée ne contenant pas plus de 2 mgr. de glucose. Porter à l'ébullition pendant 2 minutes $\frac{1}{2}$ ou placer 15 minutes dans l'eau bouillante. Refroidir. Ajouter 5 cm³ d'acide sulfurique N et après une minute titrer l'iode libre au moyen d'hyposulfite N/200.

Un titrage à blanc a été fait au préalable sur 5 cm³ de réactif additionnés d'un égal volume d'eau.

La différence entre les résultats des deux dosages donne le cuivre réduit, — sachant que 1 cm³ d'hyposulfite N/200 correspond à 0 mgr. 318 de cuivre. La quantité de sucre correspondante est donnée par des tables spéciales.

MICRO-MÉTHODE DE BANG [B. 17-18].

C'est encore sur le même principe que repose cette méthode qui s'applique à I ou II gouttes de sang, c'est-à-dire à 0 mgr. 1 de glucose environ.

La technique primitive, qui utilisait l'action oxydante de l'iode en solution alcaline sur l'oxydule formé par les matières réductrices, a été plusieurs fois modifiée par

(1) Réactif cupro-alcalin :

SO ₄ Cu crist.	5 gr.
Acide tartrique	7 gr. 50
Carbonate de soude anhydre.....	40 gr.
Iodure de K	10 gr.
Iodate de K.....	0 gr. 7
Oxalate de K.....	18 gr. 4
Eau distillée, q. s. p ^r	1000 cm ³

Dissoudre le carbonate dans environ 400 cm³ d'eau chaude. Puis y verser en remuant le sulfate de cuivre et l'acide tartrique dissous dans 150 cm³ d'eau. Dissoudre d'autre part l'iodure, l'iodate et l'oxalate dans 200 cm³ d'eau. Mélanger. Refroidir. Compléter à 1.000 cm³

différents auteurs et par Bang lui-même. Voici la dernière technique qu'il a publiée peu de temps avant sa mort :

Une quantité de sang qui ne doit pas dépasser 100 à 130 mgr., — c'est-à-dire I ou II gouttes, — est prélevée par piqure du doigt et recueillie sur une petite bande de papier filtre tarée au préalable. On pèse très rapidement, sur une balance de torsion, le papier imprégné de sang. La différence des deux poids donne le poids du sang.

On plonge la bandelette dans 6 cm³ 5 de solution défécante (1), où on la laisse macérer 30 minutes. On décante la solution où ont diffusé les substances solubles dans une fiole conique de 100 cm³. On fait macérer une deuxième fois le papier dans 6 cm³ 5 de solution défécante. On décante et on joint ce liquide à celui recueilli dans la fiole.

On ajoute 2 cm³ de solution cupro-iodique (2) et 2 cm³ de solution alcaline (3). On chauffe pendant 4 minutes au moyen d'un courant de vapeur d'eau qui arrive dans le mélange par un tube en verre à extrémité renflée et perforée de 5 ou 6 petits trous. Puis on ajoute 2 cm³ d'acide

(1) Solution défécante :

Acétate d'urane pur	3 gr.
Solution saturée de KClO ³ pur.....	1300 cm ³
HCl à 25 %	1 cm ³ 5
Eau distillée, q. s. p ^r	2000 cm ³

(2) Solution cupro-iodique :

Solution d'iodate de K N/10	10 cm ³
Solution de sulfate de cuivre à 10 %.....	2 gr. 5
Eau distillée, q. s. p ^r	100 cm ³

(3) Solution alcaline :

Carbonate de potasse	75 gr.
Sel de Seignette.....	20 gr.
Eau distillée, q. s. p ^r	1000 cm ³

sulfurique à 20 % ; on lave par un jet de pissette l'extrémité du tube perforé. On laisse reposer 5 minutes. On ajoute 25 cm³ d'eau et on refroidit. On ajoute ensuite 0 cm³ 5 d'une solution de KI à 5 %, I ou II gouttes de solution d'amidon et, au moyen d'une microburette (divisée en 1/100^e de cm³) on titre l'iode libéré avec une solution d'hyposulfite de soude N/100. Dans un essai à blanc on consomme 0 cm³ 03 d'hyposulfite.

0 cm³ 28 d'hyposulfite N/100 correspondent à 0 mgr. 1 de sucre. Si n est le nombre de cm³ d'hyposulfite employés, le glucose de la prise d'essai est exprimé par la formule $(1,97 - n) : 0,28 =$ quantité de glucose exprimée en 1/10^e de mgr.

MÉTHODE DE OTTO FOLIN ET HSIEN WU [B. 20-21].

Cette méthode colorimétrique de dosage du glucose consiste à réduire une solution cuivrique alcaline par la liqueur sucrée et à développer, par addition d'une solution phospho-tungsto-molybdique, une coloration bleue (due à la formation d'un sous-oxyde de molybdène) qu'on mesure par comparaison avec celles obtenues à partir de solutions étalons de glucose.

Réactifs nécessaires :

1^o Solution cupro-alcaline :

Carbonate de soude sec....	40 gr.
Acide tartrique.....	7 gr. 5
Sulfate de cuivre crist....	4 gr. 5
Eau dist. qs p ^r	1.000 cm ³

On dissout le carbonate dans 400 cm³ d'eau. On ajoute

l'acide tartrique qu'on dissout; puis le sulfate de cuivre dissous au préalable dans 50 cm³ d'eau. On mélange et on complète à 1.000 cm³. Si à la longue il se dépose un précipité on décante la solution.

2° Solutions étalons de glucose :

a) Solution mère à 1 % de glucose pur et anhydre que l'on conserve par addition de quelques gouttes de xylol ou de toluène;

b) Solution à 0 gr. 01 % qu'on obtient par dilution de 10 cm³ de solution mère à 1.000 cm³;

c) Solution à 0 gr. 02 % (dilution de 10 cm³ de solution mère à 500 cm³).

3° Réactif phosphotungstomolybdique :

Acide molybdique.....	35 gr.
Tungstate de soude.....	5 gr.
Soude pure à 10 %.....	200 cm ³
Acide phosphorique à 85 % (60° B). .	125 cm ³
Eau distillée qs pr.....	500 cm ³

On dissout l'acide molybdique, le tungstate de soude dans 200 cm³ d'eau; on y joint la soude. On fait bouillir vigoureusement pendant une demi-heure pour chasser l'ammoniaque que contient l'acide molybdique. On refroidit. On dilue à 350 cm³. On ajoute l'acide phosphorique. On complète à 500 cm³.

4° Solution d'acide sulfurique 2/3 N.

5° Solution de tungstate de soude à 10 %. Elle doit être neutre ou très faiblement alcaline (alcalinité inférieure à 0 cm³ 4 N/10 pour 10 cm³).

Technique : Pour éviter l'action de l'air, le dosage s'opère dans des tubes spéciaux : ce sont de gros tubes

à essai jaugés à 25 cm³ et présentant vers la partie inférieure un étranglement qui forme une petite boule de contenance d'environ 3 cm³ 5 à 3 cm³ 8.

Dans un tube on mesure exactement 2 cm³ de solution sucrée (filtrat sanguin par exemple). Dans un second 2 cm³ de solution étalon de glucose à 1 p. 10.000 et dans un troisième 2 cm³ de solution étalon à 2 p. 10.000. Dans les trois tubes on ajoute 2 cm³ de liqueur cupro-alcaline. Le niveau du liquide dans les tubes doit alors se trouver à la partie inférieure de l'étranglement.

On agite les tubes et on les plonge en même temps dans un bain-marie bouillant, où on les laisse de 6 à 8 minutes. Puis, toujours ensemble, on les transporte dans un bain d'eau froide où on les maintient 3 minutes sans agiter.

Dans chaque tube on ajoute 2 cm³ de réactif phosphomolybdique. Le précipité d'oxydure se dissout et une coloration bleue apparaît. Quand la dissolution est achevée, on complète à 25 cm³ avec de l'eau distillée. On mélange. Après 5 minutes on peut faire la mesure colorimétrique en utilisant l'étalon dont l'intensité de coloration se rapproche le plus de celle du liquide sucré à doser.

Si T est le titre de l'étalon, E l'épaisseur de l'étalon, et E' l'épaisseur du liquide à examiner, on a la quantité x de glucose contenu dans ce liquide par la formule :

$$x = \frac{E}{E'} T$$

La méthode donnerait, d'après les auteurs, des résultats exacts pour les teneurs en glucose variant de 0 mgr. 14 à 0 mgr. 80 dans les 2 cm³ de la prise d'essai.

MODIFICATION DE CH. O. GUILLAUMIN [B. 13].

Ch. O. Guillaumin a remarqué que, même dans ces limites, l'intensité de coloration augmente plus rapidement que le titre en sucre ; d'où il résulte des erreurs quelquefois assez importantes : pour une solution contenant 1,60 % par exemple, on obtiendrait 1,73 en la comparant à l'étalon I et 1,49 à l'étalon II.

Pour remédier à cela, Guillaumin a établi une série de tables de correspondance donnant par simple lecture, pour chaque étalon employé, la quantité de glucose correspondant à la hauteur lue au colorimètre.

Voici, par exemple, la table construite pour les quantités de glucose allant de 0 mgr. 14 à 0 mgr. 40, comparées à l'étalon I observé sous 30 mm.

X millimètres	GLUCOSE milligrammes	X millimètres	GLUCOSE milligrammes	X millimètres	GLUCOSE milligrammes
46	0,140	29	0,205	20	0,283
44	0,145	28	0,211	19	0,296
42	0,151	27	0,218	18	0,310
40	0,157	26	0,225	17	0,326
38	0,164	25	0,237	16	0,343
36	0,172	24	0,241	15	0,362
34	0,181	23	0,250	14	0,383
32	0,190	22	0,260	13	0,406
30	0,200	21	0,271		

Application au sang :

Mesurer dans un tube à essai : 1 cm³ de plasma (ou de sang total), 7 cm³ d'eau distillée, 1 cm³ de solution de

tungstate de soude. Mélanger et ajouter 1 cm³ d'acide sulfurique 2/3 N. Agiter vigoureusement pendant quelques secondes. Filtrer ou centrifuger pour obtenir un liquide clair, légèrement acide, qui représente 60 à 78 % du mélange initial, suivant qu'on a opéré sur le plasma ou le sang total.

Avec 2 cm³ de ce liquide on opère le dosage comme ci-dessous.

Application au liquide céphalo-rachidien et aux sérosités (Guillaumin) :

La technique de dosage dans les sérosités peut être calquée sur celle utilisée pour le sang.

Pour le liquide céphalo-rachidien, Guillaumin propose la technique suivante : Mesurer dans un tube à essai sec gradué à 5 cm³ : 1 cm³ de liquide, 0 cm³ 5 (ou X gouttes) de solution de tungstate de soude à 10 %, 0 cm³ 5 (ou X gouttes) d'acide sulfurique N/2. Porter sur une petite flamme jusqu'à début d'ébullition, ce qui provoque la floculation du précipité albumineux. Ajouter 3 cm³ d'eau et porter dans un bain d'eau froide pendant 3 minutes. Filtrer. Sur 2 cm³ de filtrat on opère le dosage selon la méthode de Folin, en se reportant aux tables de Guillaumin.

Le chiffre de glucose trouvé, multiplié par 2.500, donne la teneur en glucose par litre.

MÉTHODE DE G. FONTÈS ET L. THIVOLLE [B. 25].

Cette méthode est une modification volumétrique de la méthode de Folin et Wu. Se basant sur le fait que la

solution bleue obtenue est décolorée par une solution de permanganate, ces auteurs, au lieu d'évaluer colorimétriquement la teinte bleue, la mesurent par la quantité de permanganate de K nécessaire à sa décoloration.

Réactifs employés :

1° Liqueur cupro-tartrique alcaline :

Solution A :	{	Sulfate de cuivre crist...	17 gr. 50
		Acide sulfurique.....	2 cm ³ 5
		Eau distillée qs p ^r	1.000 cm ³
Solution B :	{	Carbon. de soude anhydre	80 gr.
		Ajouter Eau (environ)...	200 cm ³
		Puis : acide tartrique....	15 gr.
		Eau distillée qs p ^r	1.000 cm ³

Pour l'usage mélanger 1 volume de A et 1 volume de B. Porter le mélange 1 minute à l'ébullition pour sensibiliser le réactif, ou employer un réactif préparé de la veille.

2° Solution saturée de sulfate de magnésie.

3° Solution saturée de carbonate de soude.

4° Réactif phospho-molybdique :

Molybdate d'ammoniaque.. 40 gr.

Lessive de soude (D = 1,36) 60 cm³

Ajouter environ 100 cm³ d'eau et laisser à l'ébullition jusqu'à disparition complète d'ammoniaque. Refroidir. Ajouter environ 200 cm³ d'eau. Puis

Acide phosphorique (D = 1,38) 200 cm³

Faire bouillir 15 minutes. Refroidir. Ajouter

Eau distillée qs p^r..... 1.000 cm³

5° Solution de permanganate de potasse à 0 gr. 08 pour 1.000 (environ N/400).

6° Solution de glucose pur et anhydre à 1 p. 1.000 (conservée sous toluène).

7° Solution de tungstate de soude à 10 %.

8° Solution d'acide sulfurique 2/3 N.

Technique :

1° *Pour des quantités de glucose comprises entre 0 mgr. 1 et 1 mgr. :*

Prendre 2 tubes à centrifuger d'environ 12 cm. de hauteur et 2 cm. 5 de diamètre en verre incolore et supportant les variations brusques de température. Verser dans l'un 2 cm. ³ de solution sucrée à doser, dans l'autre 1 cm. ³ de solution étalon de glucose à 1 p. 1.000 (soit 1 mgr.) et 1 cm³ d'eau. Dans les deux 1 cm³ de liqueur cupro-alcaline. Mélanger.

Porter les deux tubes au bain-marie bouillant ; les y maintenir 6 minutes. Les sortir de l'eau et ajouter rapidement à chacun V gouttes de la solution de sulfate de magnésie et IV gouttes de la solution de carbonate de soude. Le précipité gélatineux de carbonate de magnésie formé a pour but d'arrêter toute réduction progressive ultérieure et de maintenir en état de suspension fixe l'oxydule de cuivre. Replonger les tubes dans l'eau bouillante 1 minute pour rendre le précipité plus lourd et plus compact.

Remplir d'un jet de pissette les tubes avec de l'eau bouillante. Centrifuger. Décantier un tube au moyen d'une pissette (système Ambard. Cf. p. 25) et verser aussitôt dans ce tube 5 cm³ de réactif phospho-molybdique mesurés à l'avance. Agiter.

Traiter de même le second tube.

Le précipité se dissout et la teinte bleue apparaît. Après 5 minutes faire tomber goutte à goutte dans chaque tube la solution de permanganate jusqu'à décoloration.

Les auteurs admettant que la quantité de permanganate employée est proportionnelle au glucose mis en jeu, le rapport entre le nombre de cm^3 versés dans le tube à doser et dans le tube témoin, reproduit le rapport des quantités de glucose réagissantes.

2° *Pour des quantités de glucose comprises entre 0 mgr. 01 et 0 mgr. 1 :*

La technique est la même sauf les modifications suivantes :

Emploi d'une solution de glucose à 1 p. 10.000; volume de solution sucrée dans chaque tube complété à 1 cm^3 ; emploi de 0 cm^3 5 de liqueur cupro-tartrique et de 2 cm^3 de réactif phospho-molybdique ; usage d'une micro-burette (1).

Application au sang :

Recueillir par ponction veineuse, sur de l'oxalate d'ammoniaque pulvérisé, 2 cm^3 de sang, en agitant.

Mesurer très exactement à la pipette 1 cm^3 de sang dans une fiole jaugée de 10 cm^3 . Rincer la pipette à deux reprises avec 1 cm^3 d'eau distillée, et introduire ces 2 cm^3 , lentement écoulés, dans la fiole. Ajouter 5 cm^3 d'eau. Agiter pour homogénéiser le mélange. Ajouter 1 cm^3 de solution de tungstate de soude à 10 % et 1 cm^3 d'acide sulfurique 2/3 N. Agiter longuement. Filtrer.

(1) Burette de 2 cm^3 graduée en 1/50^e de cm^3 .

Sur 2 cm³ de filtrat, représentant 0 cm³ 2 de sang, on fait le dosage suivant la technique ci-dessus indiquée.

Si le rapport du nombre de centimètres cubes de solution de MnO⁴ K versés dans le tube en expérience au nombre de centimètres cubes versés dans le tube témoin donne un chiffre compris entre 0 mgr. 1 et 1 mgr. de glucose, il suffit de multiplier ce chiffre par 5 pour avoir, exprimée en grammes par litre, la valeur de la glycémie.

Si ce chiffre est supérieur à 1 mgr., on refait un dosage en diluant le filtrat. Si ce chiffre est inférieur à 0 mgr. 1 on opère suivant la 2^e technique.

Application au liquide céphalo-rachidien :

A 1 cm³ de liquide on ajoute 3 cm³ d'eau, puis 0 cm³ 5 de solution de tungstate et 0 cm³ 5 d'acide sulfurique 2/3 N. On agite. On filtre. Sur 2 cm³ de filtrat on opère le dosage comme pour le sang. En multipliant le chiffre trouvé par 2,5 on a, en grammes par litre, la valeur de la glycorachie.

Si ce chiffre est supérieur à 1 mgr. ou inférieur à 0 mgr. 1, on opère comme il a été dit pour le sang.

MÉTHODE DE GOIFFON ET NEPVEUX [B. 26].

Cette méthode colorimétrique repose sur le principe suivant :

L'oxydule de cuivre obtenu dans la réduction, par la solution sucrée à doser, d'une liqueur cupro-alcaline, est traité par une solution de ferrocyanure de potassium en présence d'acide tartrique : il se développe une coloration rougeâtre qu'on compare au colorimètre à celle obtenue

par traitement semblable d'une solution étalon de glucose.

Technique :

Avec une quantité connue de liquide sucré (renfermant de 0 mgr. 20 à 1 mgr. 50 de sucre) on produit la réduction de la liqueur cupro-alcaline de Fehling. L'oxyde cuivreux obtenu est lavé à l'eau distillée bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage, filtrées sur une bourre d'amiante pour retenir les parcelles d'oxydure entraînées, ne donnent plus de coloration avec le ferrocyanure de K au $1/5$.

L'oxydure resté dans la capsule et sur l'amiante est dissous dans III à IV gouttes d'acide chlorhydrique pur. La solution obtenue est versée dans un matras jaugé de 50 cm³; on lave à l'eau distillée la capsule et l'amiante et l'eau de lavage est versée dans le matras. On ajoute quelques gouttes de solution de ferrocyanure de K au $1/5$ et II à III de solution aqueuse saturée d'acide tartrique pour former un ferrocyanure de cuivre colloïdal de teinte rougeâtre. On complète à 50 cm³.

D'autre part on prépare de la même façon une solution étalon à partir d'une solution de cuivre répondant à un titre connu de sucre (1).

On compare au colorimètre ces deux solutions. Soit A la hauteur lue pour la solution étalon qui correspond à une quantité de sucre p; — B la hauteur correspondante à x grammes de sucre dans la prise d'essai, quantité à doser.

(1) On emploie généralement 1 cm³ d'une solution de sulfate de cuivre à 3 gr. 50‰ titrée exactement en sucre réducteur, sur laquelle on réalise la formation du ferrocyanure de cuivre dans les conditions définies ci-dessus, pour un volume de 50 cm³.

On a l'équation : $\frac{A}{x} = \frac{B}{p}$ d'où $x = \frac{A}{B} \cdot p$.

Applications au sang et au liquide céphalo-rachidien :

1 cm³ de sang est jeté, au sortir de la veine, dans 10 à 15 cm³ de défécant de Bang (Cf. p. 30), agité vivement pendant 1 minute, porté à l'ébullition, filtré. Le précipité est lavé avec quelques centimètres cubes de défécant. Le filtrat est bouilli 2 minutes avec un excès (2 cm³) de liqueur de Fehling.

L'oxyde cuivreux est traité comme il est dit plus haut.

B. — Méthodes basées sur le dosage indirect de l'oxydule de cuivre

Elles consistent, comme nous l'avons dit, en ceci : Dans une première opération on dose le cuivre total contenu dans un volume donné de solution cuivrique.

On réduit à chaud un égal volume de solution par la liqueur sucrée à doser. Et dans une seconde opération on dose le sel cuivrique en excès. La différence entre les deux dosages donne le cuivre réduit.

Toutes les méthodes de dosage du cuivre sous forme cuivrique peuvent donc, théoriquement, être utilisées dans ce but. En réalité, deux de ces méthodes seulement ont été surtout appliquées au dosage du glucose :

a) La méthode de Lehmann, iodométrique, que nous étudions longuement plus loin. Elle n'a d'ailleurs pas été,

à notre connaissance, appliquée aux liquides de l'organisme, sauf à l'urine (Grimbert, B. 5).

b) La méthode de Bauzil et Boyer, qui est une application à ce cas particulier de la méthode cupricyanimétrique de Parkes-Denigès et de la méthode cyano-cupriargentimétrique de Denigès. En voici les détails :

MÉTHODE DE BAUZIL ET BOYER [B. 27].

Les deux techniques débutent de la même façon :

Verser dans un petit ballon : 12 cm³ de solution A de Fehling, 12 cm³ de solution B, et 120 cm³ de liqueur sucrée (correspondant, par exemple, à 12 cm³ de sang). Peser le tout. Porter 3 minutes à l'ébullition. Ramener alors au poids primitif avec de l'eau distillée bouillie. Filtrer sur filtre légèrement talqué.

Recueillir 120 cm³ de filtrat correspondant à 20 cm³ de liqueur de Fehling (et, dans le cas du sang, à 10 cm³ de sang).

A ce moment on a le choix, pour le dosage du cuivre résiduel, entre les deux méthodes :

1° *Méthode cupricyanimétrique* :

Porter à l'ébullition les 120 cm³ de filtrat bleu obtenu. Ajouter 10 cm³ d'ammoniaque. Verser de la solution N/10 de cyanure de K jusqu'à décoloration complète. Soit n cm³ de solution employée.

Si f représente le titre de la solution de cyanure (1)

(1) Titrage de la solution de cyanure de K :
Mélanger 10 cm³ de liqueur de Fehling (5 cm³ de A + 5 cm³ de B) et 100 cm³ d'eau. Porter à l'ébullition. Ajouter 10 cm³ d'ammoniaque et verser de la solution N/10 de cyanure jusqu'à décoloration. Soit

et g celui de la liqueur de Fehling (2), la quantité de sucre exprimé en glucose anhydre dans la prise d'essai est donnée par la formule : $g [20 - (f \times n)]$.

2° *Méthode cyanocupriargentimétrique :*

Aux 120 cm³ de filtrat bleu on ajoute 12 cm³ d'ammoniaque à 25° B, 20 cm³ de solution de cyanure de K N/10, 1 cm³ de solution d'iodure de K à 10 %, et on verse goutte à goutte de la solution N/10 d'azotate d'argent jusqu'à opalescence persistante. Soit n cm³ employés. D'où le volume de solution de cyanure combiné est $c = 20 - n$. On a la quantité de sucre dans la prise d'essai en appliquant la formule : $g [20 - (f \times c)]$.

Application au sang :

Les auteurs donnent deux procédés de défécation :

1^{er} *procédé* : Prélever 15 à 18 cm³ de sang sur fluorure. Chauffer vers 65°, dans une capsule de porcelaine, 135 cm³ de solution de sulfate de soude à 25 % additionnés de X gouttes d'acide acétique. Y verser en agitant 15 cm³ de sang. Peser la capsule et son contenu. Porter à l'ébullition

n cm³ de solution employés. f étant le nombre de centimètres cubes de liqueur de Fehling décolorés par 1 cm³ de sol. de cyanure N/10, on a $f = 10/n$.

(2) Titrage de la liqueur de Fehling :

Mélanger 20 cm³ de liqueur de Fehling, 96 cm³ de solution de sulfate de soude à 25 % et 4 cm³ de solution de glucose pur à 1 %. Peser le tout. Porter 3 minutes à l'ébullition. Ramener au poids initial avec de l'eau distillée. Filtrer sur filtre talqué. Recueillir 60 cm³ de filtrat qui doit être limpide et bleu. Il correspond à 10 cm³ de liqueur de Fehling et à 0 gr. 02 de glucose. Porter à l'ébullition. Ajouter 5 cm³ d'ammoniaque et verser de la solution N/10 de cyanure jusqu'à décoloration. Soit N cm³ employés. G étant le nombre de grammes de glucose correspondant à 1 cm³ de liqueur de Fehling,

$$\text{on a : } g = \frac{0,02}{10 - (n \times f)} .$$

30 secondes. Rétablir avec de l'eau le poids primitif. Filtrer. Recueillir 120 cm³ de filtrat sur lesquels on fait le dosage.

2^e *procédé* : Verser goutte à goutte en agitant 15 cm³ de sang fluoruré dans 77 cm³ d'alcool à 90°. Abandonner au repos 30 minutes en lieu frais. Filtrer ensuite ; recueillir 72 cm³ de filtrat qu'on évapore jusqu'à réduction à 5 cm³. Il se forme à ce moment une couche graisseuse à la surface du liquide.

Sur ce résidu vert sale, verser 60 cm³ de solution de sulfate de soude à 25 % additionnés de X gouttes d'acide acétique. Porter 30 secondes à l'ébullition. Filtrer sur filtre mouillé. Laver à deux reprises avec 25 cm³ de solution de sulfate de soude chaude. Compléter à 120 cm³ correspondant à 12 cm³ de sang. Faire le dosage comme ci-dessus.

CHOIX D'UNE OU PLUSIEURS DE CES METHODES

Donner la préférence à l'une ou à l'autre de ces méthodes est chose délicate. Chacune en effet a ses avantages et ses inconvénients.

Il est certain toutefois, et leur grand nombre en est la preuve, qu'aucune d'elles n'est parfaite. Cela tient au principe même qui leur est commun à toutes : la réduction de l'oxyde cuivrique et l'oxydation corrélative du sucre s'opèrent suivant une réaction complexe, irrégulière et mal connue.

Nombreuses sont les circonstances qui influent sur cette réaction et la font varier dans des limites considérables étant donné les petites quantités de sucre sur lesquelles nous opérons : concentration des liqueurs cuivrique et sucrée, proportions relatives des réactifs, température et durée de la chauffe, conditions d'alcalinité, influence oxydante de l'air, etc.

C'est pourquoi, quelle que soit la méthode employée, le dosage de faibles quantités de sucres réducteurs, — surtout dans les liquides de l'organisme où l'on a de plus à compter avec les autres substances, telles que les corps albuminoïdes ou les composés glycuroniques par exemple, — est extrêmement délicat et nécessite de grands soins.

Néanmoins, si l'on ne peut prétendre à un résultat rigoureusement exact comme dans tel dosage basé sur une réaction définie, il est possible, en se plaçant exactement dans les mêmes conditions expérimentales, d'obtenir des résultats suffisamment comparables.

Parmi cet ensemble de méthodes nous en avons choisi deux que nous avons étudiées le plus complètement possible.

La première est la méthode de Folin et Wu, avec la modification de Fontès et Thivolle, dont la sensibilité nous sembla intéressante puisqu'elle paraissait pouvoir s'appliquer à des doses très petites de glucose (ordre du milligramme et au-dessous).

La seconde est la méthode type Lehmann, avec ses nombreuses modifications, qui, bien que s'appliquant à

des doses moins faibles de glucose (supérieures à 1 mgr.), nous a paru remarquable par sa simplicité.

Nous n'avons pas cru devoir aborder les méthodes qui se proposent de doser des quantités de glucose de l'ordre du dixième de milligramme et au-dessous, car, dans ce cas, on se butte à des difficultés expérimentales très grandes qui rendent les méthodes aussi délicates qu'incertaines.

C'est le cas, à notre avis, pour la *microméthode de Bang*. Elle a joui d'une assez grande faveur, due à cet avantage qu'elle a de ne nécessiter qu'une quantité minime de sang (II à III gouttes). Mais, d'après Labbé, Nepveux et Ménélas Nomidis qui l'ont étudiée en détail [B. 28], « elle exige de l'opérateur l'observation scrupuleuse d'une technique rigoureuse qui seule permet d'obtenir des résultats comparables ».

La quantité de sucre mise en jeu étant extrêmement petite (0 mgr. 1 environ), la moindre erreur revêt tout de suite des proportions considérables. Or, nombreux sont les facteurs qui font varier les conditions opératoires : pureté des produits, mode et durée du chauffage, etc.

C'est ainsi qu'avec du chlorure de potassium Poulenc portant la mention « chimiquement pur, pour analyse », ces auteurs ont trouvé une différence de 17 % avec le chiffre théorique (1 cm³ 65 au lieu de 2 cm³).

Quant au mode de chauffage, voici différents chiffres trouvés par ces mêmes auteurs avec diverses sources de chaleur, sur une solution de sucre interverti de concentration 1 p. 1.000.

Chauffage extérieur direct par micro-Bunsen et ébullition	0,50
Chauffage intérieur par courant faible de vapeur d'eau + chauffage extérieur par bain de vapeur.	0,53
Chauffage intérieur par courant moyen de vapeur d'eau + chauffage extérieur par bain de vapeur.	0,91
Chauffage intérieur par courant intense de vapeur d'eau, sans chauffage extérieur.....	1,40

Le chauffage du générateur de vapeur lui-même a une influence non négligeable. C'est ainsi qu'avec une même pression de gaz et des brûleurs Bunsen différents ou dont le robinet était inégalement ouvert, ces auteurs ont trouvé les chiffres suivants :

Brûleur Bunsen grand modèle.....	1,29
Brûleur Bunsen court, robinet entièrement ouvert.	1,02
Brûleur Bunsen ordinaire moyen, robinet ouvert à 45°	0,96
Brûleur Bunsen ordinaire moyen, robinet ouvert à 80°	1
Brûleur Bunsen ordinaire moyen, robinet ouvert à 90°.....	1,17

Cela suffit à montrer combien sont difficiles à réaliser les conditions exactes d'expérience et combien nombreuses et importantes sont les chances d'erreur.

La simple mesure des solutions, d'ailleurs, est une source de notables erreurs : une différence d'un dixième de milligramme dans la pesée des II. gouttes de sang fait d'abord une erreur de 1 % environ. De 1 % aussi est l'erreur que l'on peut faire dans la mesure de la liqueur cuivrique. Mais la plus importante est celle qui a trait à

la mesure de l'hyposulfite : 0 cm³ 28 d'hyposulfite N/100 en effet correspondent à 0 mgr. 1 de glucose; or la goutte donnée par une burette assez effilée a un volume de 0 cm³ 025 à 0 cm³ 030, — mettons 0 cm³ 028; une goutte en plus ou en moins dans le titrage qui s'applique à 0 mgr. 1 de glucose apporte donc une erreur de 10 %.

Pour toutes ces raisons donc les méthodes de ce type ne nous paraissent pas à conseiller.

DEUXIEME PARTIE

Etude de la méthode de Folin et Wu et de ses modifications

CHAPITRE PREMIER

Etude de la méthode de Folin et Wu

La méthode de Otto Folin et Hsien Wu est, parmi les méthodes colorimétriques, une des plus récentes et, peut-être pour cela, des moins critiquées.

Elle nous a semblé au premier abord à la fois simple et sensible et il nous a paru intéressant de déterminer la précision qu'on pouvait en attendre.

I. — LES RESULTATS SONT-ILS CONSTANTS ?

Nous avons opéré sur les solutions étalons de glucose à 0,1 p. 1.000 et 0,2 p. 1.000 (Cf. p. 32) préparées avec du glucose anhydre et sec dont nous avons vérifié la pureté.

Pour chaque évaluation colorimétrique nous avons pris comme résultat la moyenne de 5 lectures.

Nos premiers essais consistèrent en de simples dosages effectués selon la technique de Folin et Wu, en nous reportant, pour les résultats, aux tables de Guillaumin.

Prenant comme étalon 0 mgr. 2 de glucose (c'est-à-dire 1 cm³ de la solution à 0,2 p. 1.000) nous avons mis dans le second tube soit 0 mgr. 3 (1 cm³ 5 de la solution à 0,2 p. 1.000) soit 0 mgr. 4 (2 cm³ de cette solution).

D'après Folin et Wu, regardant, à l'aide du colorimètre de Duboscq, l'étalon sous 30 mm., nous aurions dû voir le liquide x sous une épaisseur $[E' = \frac{TE}{x}]$ égale à 20 mm pour 0 mgr. 3 et à 15 mm. pour 0 mgr. 4. D'après Guillaumin ces hauteurs auraient dû être respectivement 18 mm. 7 et 13 mm. 25.

Or voici les hauteurs trouvées dans une série d'expériences avec les quantités de glucose correspondantes d'après les tables de ce dernier auteur, l'étalon (0 mgr. 2) étant observé sous 30 mm. et la mesure colorimétrique étant faite 5 minutes après l'addition du réactif phosphotungsto-molybdique :

1° Dosages portant sur 0 mgr. 3 de glucose :

Hauteurs lues	Glucose correspondant	Erreur %
—	—	—
18,09	0,308	+ 2,6
16,32	0,336	+ 12
15,78	0,347	+ 15,6
17,73	0,313	+ 4,3
18	0,310	+ 3,3

2° Dosages portant sur 0 mgr. 4 de glucose :

Hauteurs lues	Glucose correspondant [†]	Erreur %
—	—	—
12,24	0,423	+ 5,7
12,42	0,418	+ 4,5
10,8	0,456	+ 14
12,15	0,425	+ 6,2

L'examen de ces chiffres montre que :

1° Les résultats sont toujours trop élevés. Il y a donc là une erreur systématique. Le sens de cette erreur est précisément le même que celui signalé par P. Fleury pour la colorimétrie des solutions d'iode, de permanganate de potasse et de bleu de méthylène [B. 29] quand on compare des solutions de titre éloigné. Il paraît donc dû en partie à la méthode colorimétrique.

2° L'importance de l'erreur est très variable puisqu'elle peut aller de 3 à 15 %. Or on peut admettre que la mesure colorimétrique donne une erreur maxima de 1 à 2 % (P. Fleury, B. 29)

Ces erreurs ne peuvent donc provenir que de la réaction elle-même.

Donc ces résultats :

1° Confirment les conclusions de Ch. O. Guillaumin qui a montré la non-proportionnalité entre le glucose et les hauteurs relatives déterminées au colorimètre;

2° Montrent que les erreurs, même en opérant sur des solutions de glucose pur, peuvent être considérables.

II. — EXPERIENCES SUR LA STABILITE DE LA MATIERE COLORANTE

Folin et Wu disent que la coloration formée est stable pendant plusieurs jours. Il nous a semblé intéressant de vérifier l'exactitude de cette affirmation qui, si elle était confirmée, permettrait de ne pas préparer un étalon pour chaque dosage dans le cas où l'on a une série de dosages à exécuter.

C'est pourquoi nous avons fait tout d'abord, pour un même dosage, des mesures colorimétriques successives au bout de temps croissants.

Nous avons ainsi constaté que pendant la première heure le rapport de l'intensité de coloration des deux tubes ne variait pas sensiblement. Cependant, si on poursuit l'expérience, la coloration correspondant à la dose la plus élevée de glucose (0 mgr. 3 ou 0 mgr. 4) semble bientôt moins intense par rapport à la première, — c'est-à-dire que, le tube étalon restant fixe, il nous fallait, pour avoir égalité de teinte, regarder le tube 2 sous une hauteur légèrement plus grande qu'au début. Ce fait était encore plus accusé au bout de 24 heures.

Voici en effet les résultats de quelques examens faits après 5 minutes, après 24 heures et 48 heures :

	I. - avec 0mg3 de glucose		II. - avec 0 mg 3		III. - avec 0 mg 4	
	Hauteur lue	Glucose	Hauteur lue	Glucose	Hauteur lue	Glucose
Après 5 minutes.	16.95	0.325	17.6	0.316	12.15	0.425
Après 24 heures.	18.	0.310	18.7	0.300	13.1	0.403
Après 48 heures.	18.3	0.304			13.2	0.401

Ce fait semblait bien montrer :

1° Que la coloration dans les différents tubes n'était pas stable ;

2° Qu'elle variait de façon différente suivant la concentration en glucose.

Pour nous rendre compte du *sens* de cette variation nous avons fait l'expérience suivante :

Un tube contenant 0 mgr. 24 de glucose était comparé, à des temps croissants, à un tube étalon renfermant 0 mgr. 2 de glucose et d'âge fixe, — c'est-à-dire qu'un étalon neuf était fait pour chaque mesure.

Voici les chiffres qui furent trouvés, l'étalon (tube I) étant examiné sous 30 mm. :

Age de l'étalon	Age du tube II	Hauteur lue pour le tube II
—	—	—
7 min.	7 min.	24 ^{mm}
7 min.	17 min.	28 ^{mm} 15
7 min.	40 min.	30 ^{mm}
7 min.	60 min.	33 ^{mm} 75
7 min.	6 heures.	37 ^{mm} 50

La coloration paraît donc atteindre son maximum avant le début de notre examen, et décroître très rapidement au début de la mesure, puis plus lentement ensuite.

Si on exprime cette diminution par la différence de hauteur entre deux lectures du tube à examiner, on voit qu'elle est par exemple :

3 mm. 8 de la 7^e à la 17^e minute ;

5 mm. 1 de 17 min. à 1 heure ;

3 mm. 7 de 1 heure à 6 heures.

L'expérience répétée avec deux tubes de même concen-

tration en glucose (0 mgr. 2) donna les mêmes résultats :

Etalon (Tube I)		Tube II	
Age	Hauteur	Age	Hauteur
—	—	—	—
5 min.	20 ^{mm}	5 min.	20 ^{mm}
5 min.	20 ^{mm}	15 min.	25 ^{mm}
5 min.	20 ^{mm}	30 min.	28 ^{mm}
5 min.	20 ^{mm}	60 min.	28 ^{mm} 5

De plus, si on compare au bout de 24 heures les trois premiers étalons ci-dessus, ayant une différence d'âge de 10 à 20 minutes et inégalement colorés au début, on constate qu'ils ont une intensité de coloration à peu près égale.

Il semble donc y avoir une sorte de stabilisation de la coloration; ou, tout au moins, si l'évolution continue, elle est devenue extrêmement lente.

D'autre part, dans ces séries de mesures nous avons constaté que la teinte elle-même changeait. D'un bleu clair et un peu verdâtre au début elle devient insensiblement plus sombre et d'un bleu noirâtre. De sorte qu'au bout d'un temps relativement court les tubes âgés ne sont plus comparables à l'étalon neuf et l'appréciation de l'égalité de teinte ne peut plus être qu'approximative.

Un moyen, semble-t-il, d'évaluer exactement la diminution d'intensité de la coloration serait de comparer un tube d'âge croissant à un étalon fixe préparé au moyen de matières colorantes. Mais le fait précédent rend cette mesure impossible car, la teinte étant en évolution con-

tinue, il faudrait en quelque sorte un étalon qui suive cette marche, ce qui est impossible.

Nous sommes cependant arrivé à suivre la diminution d'intensité de la coloration pendant 1 heure environ avec 3 étalons artificiels seulement, — le premier nous servant pendant les 10 premières minutes, le second de 10 à 30 minutes, le troisième au delà de la demi-heure.

Maki Takata [B. 30] a signalé la formule suivante d'étalon fixe pour la méthode de Folin et Wu :

Bleu à l'eau de Grüber (sol. à 0 gr. 01 p. 1.000)	50 cm ³
Nigrosine (sol. à 0,02 p. 1.000).....	12 cm ³
Sulfate de cuivre (sol. à 10 %).....	10 cm ³
Acide chlorhydrique à 1 %	2 cm ³
Eau distillée qs p ^r	100 cm ³

Nous avons essayé de le préparer ; mais les colorants qui nous furent fournis différant sans doute de ceux de l'auteur, la teinte du mélange ne correspondait pas au liquide bleu des tubes de Folin.

Nous préparâmes donc nos étalons empiriquement, par le mélange de sulfate de cuivre, de vert brillant, de vert malachite, de nigrosine, en proportions qui nous furent données par de longs tâtonnements.

Comparant à ces étalons des tubes contenant des quantités différentes de glucose (par exemple 0 mgr. 2, 0 mgr. 4), nous avons pu, — théoriquement tout au moins, — suivre la variation d'intensité de la coloration en fonction du temps.

Si nous appelons C la concentration initiale de la couleur dans le tube à examiner (par convention égale à 100), — H la hauteur sous laquelle le tube est regardé à ce

temps initial (2 minutes, dans nos expériences, après l'adjonction au liquide du réactif phospho-tungstomolybdique) — H' la hauteur du tube au bout du temps variable t et x la concentration de la coloration à ce temps t , on a :

$$\frac{x}{C} = \frac{H}{H'}$$

$$\text{d'où : } x = \frac{C \times H}{H'} = \frac{100 H}{H'}$$

Nous avons pu ainsi déterminer cette concentration ou intensité de coloration toutes les minutes jusqu'à 15 minutes puis toutes les 5 minutes de 15 à 30 minutes.

Les résultats obtenus, nous le répétons, ne pouvaient être qu'approximatifs en raison du changement de teinte parallèle à la diminution d'intensité de coloration. Néanmoins ils étaient suffisants pour permettre de construire une courbe représentative de cette diminution d'intensité.

Cette dernière, très rapide pendant la première demi-heure, où la concentration de la couleur diminue de moitié environ, se ralentit ensuite de telle sorte qu'au bout de plusieurs jours le tube possède encore une teinte bleue notable.

L'allure de la courbe semble montrer que la couleur tend vers un état d'équilibre relativement stable après 24 heures et non pas vers une disparition totale.

III. — EN RESUME

Nous avons constaté les faits suivants :

1° La teinte de la couleur obtenue par adjonction de réactif phospho-molybdique au liquide prèduit change, passant du bleu-vert au bleu-noir.

2° L'intensité de la coloration varie également : atteignant son maximum immédiatement et non au bout de 3 minutes, elle diminue très rapidement au début, puis de plus en plus lentement, en tendant vers un état relativement stable après la 24^e heure.

3° Elle semble diminuer plus rapidement dans les tubes les plus riches en glucose, de sorte que deux tubes inégalement riches ne restent pas dans le même rapport pendant toute la durée de leur évolution.

On pourrait traduire ces observations en disant que la couleur est produite par une substance à l'état colloïdal, ce qui expliquerait à la fois l'instabilité avec tendance à l'équilibre et la variation de teinte.

Cette tentative d'explication est corroborée par un autre fait constaté dans notre étude de la méthode de Fontès et Thivolle (Cf. p. 66).

IV. — CONCLUSIONS

La méthode de Folin et Wu, même employée avec l'heureuse modification de Guillaumin, nous paraît donner des erreurs notables.

Dans son emploi il ne faut pas oublier que la matière

colorante formée est en évolution constante et qu'il est par conséquent nécessaire de ne comparer que des solutions de même âge.

De plus, comme il n'y a pas parallélisme dans l'évolution de la matière colorante de tubes de concentrations différentes, c'est une raison supplémentaire pour ne comparer que des essais aussi voisins que possible.

Il faut donc multiplier les étalons comme l'indique Borde [B. 24], ou mieux encore, faire précéder le véritable dosage d'un dosage approximatif préalable de façon à déterminer l'étalon à employer.

CHAPITRE II

Etude de la méthode de Fontès et Thivolle

La méthode de Fontès et Thivolle substitue à l'évaluation colorimétrique de la couleur formée dans le procédé Folin et Wu l'appréciation volumétrique à l'aide de permanganate de potasse.

Dans l'examen de cette méthode notre attention devait donc se porter particulièrement sur deux points :

1° Le terme final de la décoloration, autrement dit le virage, était-il net ?

2° L'évolution rapide de la matière colorante que notre étude du procédé Folin-Wu a mise en évidence n'aurait-il pas une influence nuisible sur une méthode où l'on est amené à titrer *successivement* deux solutions préparées *en même temps* et qui par conséquent ont, au moment du titrage, un âge différent ?

I. — SUR LA NETTETE DU VIRAGE

Dès nos premières expériences nous fûmes frappé de ce fait qu'il était parfois assez difficile de saisir le virage,

le liquide se recolorant en bleu presque aussitôt que décoloré.

Attribuant ce fait à une impureté des produits employés, nous refîmes tous nos réactifs avec des produits nouveaux. Mais cette fois encore les mêmes recolorations bleues entachèrent de trouble le terme de la réaction.

Nous avons alors cherché à élucider la cause de ce trouble.

A de l'oxydule de cuivre pur, fraîchement préparé, nous ajoutâmes quelques centimètres cubes de réactif phospho-molybdique (soigneusement bouilli comme le recommandent les auteurs). Une coloration bleue se produisit que nous fîmes disparaître par addition de permanganate : cette fois le virage fut net et la décoloration stable. Il ne fallait donc pas incriminer notre réactif, mais le précipité résultant de la réduction.

Le virage étant net avec l'oxydule seul, peut-être le trouble venait-il du précipité de carbonate de magnésie. À un tel précipité seul, préparé par mélange des solutions de carbonate de soude et de sulfate de magnésie, — puis à ce précipité additionné d'oxydule pur, du réactif phospho-molybdique fut ajouté : dans les deux cas la décoloration par le permanganate fut stable pendant un temps assez long pour voir nettement la fin de la réaction.

Restaient donc en jeu la liqueur cuivrique en excès ou les produits d'oxydation du glucose qu'un lavage insuffisant n'avait sans doute pas complètement éliminés.

Dans un nouvel essai nous fîmes trois lavages successifs avec de l'eau distillée *bouillante* ainsi que le recom-

mandent les auteurs : les recolorations bleues, bien qu'atténuées, se reproduisirent encore.

Il fallait donc supposer que les sels constituants de la liqueur cuivrique en excès étaient entraînés par le précipité de carbonate de magnésie.

Les faits suivants nous semblèrent le confirmer :

1° Après la première centrifugation de la solution réduite, même avec des quantités très faibles de glucose, le liquide surnageant est à peu près incolore, tandis que le précipité présente une teinte bleue due très probablement au sel cuivrique entraîné.

2° De l'iodure de potassium ayant été ajouté, en milieu acide, à ce précipité, il se libéra de l'iode.

3° De l'iodure ajouté pareillement au liquide séparé par centrifugation ne provoqua aucune libération d'iode. Donc tout le sel cuivrique en excès était entraîné par le précipité.

4° Lorsqu'on met en jeu 1 milligramme de glucose la plus grande partie de la liqueur cupro-tartrique est réduite; et dans ce cas, malgré un simple lavage à l'eau bouillie tiède, nous n'avons pas constaté de recolorations.

5° La solution bleue obtenue par addition de réactif phospho-molybdique à de l'oxydule pur ayant été décolorée, d'une façon stable, par le permanganate, l'addition de quelques gouttes de liqueur cupro-alcaline rétablit l'instabilité de décoloration.

La présence de ce précipité gélatineux de carbonate de magnésie étant une cause de troubles, nous essayâmes de nous en passer et de séparer directement par centrifu-

gation l'oxydule formé. Mais les pertes étaient trop grandes et nous dûmes y renoncer.

Remarque : Le virage, le plus souvent à peu près net à une goutte à la lumière du jour, demande à la lumière artificielle (1) deux gouttes au moins de solution à 0 gr. 08 p. 1.000.

En résumé : dans le procédé Fontès-Thivolle, le terme final de la décoloration nous a semblé parfois un peu imprécis, par suite d'une recoloration rapide de la solution. Cette recoloration nous paraît provenir de la présence des constituants de la liqueur cupro-alkaline en excès, entraînés par le précipité d'hydrocarbonate de magnésie.

II. — SUR LA STABILITE DE L' « INDICE PERMANGANIQUE »

Connaissant la rapide évolution de la matière colorante dans le procédé Folin-Wu, nous pensions qu'un dosage fait, par exemple, une heure après le développement de la coloration devait donner un résultat plus faible qu'un dosage fait dès son apparition.

1^{re} expérience : 0 mgr. 4 de glucose (2 cm³ de solution à 0,2 0/00) ayant été mélangés dans deux tubes à centrifuges à 1 cm³ de liqueur cupro-alkaline, la réduction fut opérée selon Fontès et Thivolle. Après centrifugation et

(1) Notre laboratoire était éclairé par des lampes électriques de 32 bougies, dont la plus proche était placée à 1 m. 20 de notre tube.

lavage 5 cm³ de réactif phospho-molybdique furent ajoutés à chacun des tubes.

Dans le premier, le dosage fut fait au bout de 5 minutes : à mesure des affusions de permanganate, la couleur passa du bleu foncé au bleu clair et disparut. Prenant comme terme de la réaction la première décoloration, nous employâmes 6 cm³ de MnO⁴ K approximativement.

Après une heure on fit le titrage dans le second tube : la couleur cette fois ne suivit pas la même marche, passant du bleu au vert et au vert-jaunâtre avant de se décolorer ; mais 6 cm³ environ de MnO⁴ K furent encore employés.

2^e expérience : Une petite quantité d'oxydure de cuivre pur fut dissoute dans quelques centimètres cubes de réactif phospho-molybdique et la solution diluée à 50 cm³ environ.

Sur 10 cm³ de cette liqueur nous opérâmes au bout de 5 min. la décoloration par le permanganate. Le virage fut net à 1 goutte ; 1 cm³ de MnO⁴ K fut employé.

Après 15 minutes le même dosage nécessita encore 1 cm³ de permanganate.

Au bout d'une heure 10 cm³ de la même liqueur exigèrent pour leur décoloration 0 cm³ 98 de permanganate.

La quantité de MnO⁴ K nécessaire pour la décoloration, — ce qu'on peut appeler l'« indice de permanganate », — semblait donc pratiquement stable pendant une heure au moins.

3^e série d'expériences :

Il était alors intéressant de faire parallèlement l'éva-

luation volumétrique et l'évaluation colorimétrique de la coloration bleue formée.

Un premier essai consistant à comparer colorimétriquement le liquide bleu à un étalon fixe nous montra :

1° Que la teinte variait comme dans la méthode de Folin et Wu et passait rapidement du bleu vert au bleu violacé et noirâtre.

2° Que l'intensité de cette coloration diminuait.

Nous fîmes alors une série d'expériences analogues à celle qui suit, et qui nous donnèrent les mêmes résultats :

Ayant remarqué, comme nous l'avons dit plus haut, qu'en réduisant 1 cm³ de liqueur cupro-alkaline par 1 mgr. de glucose le virage était relativement net, nous avons fait, avec ces proportions, une réduction suivant la technique de Fontès et Thivolle. Puis la solution bleue ayant été obtenue nous l'avons complétée à 50 cm³ avec de l'eau distillée. Et sur 5 cm³, — c'est-à-dire 1/10^e du volume total, correspondant à 0 mgr. 1 de glucose, — nous avons fait à des temps croissants l'évaluation de la matière colorante bleue volumétriquement et colorimétriquement (la solution étant comparée à des étalons fixes analogues à ceux qui nous ont servi pour l'étude de la méthode de Folin).

Le tableau ci-dessous expose les résultats obtenus :

Temps	MnO ₄ K à 0,08 % employé	Hauteur lue au colorimètre (1)
5 minutes	1 cm ³ 20	8 ^{mm} 7
15 —	1 cm ³ 20	9 ^{mm}
30 —	1 cm ³ 20	
1 heure	1 cm ³ 16 - 1,18	10 ^{mm} 5
2 —	1 cm ³ 16	11 ^{mm} 5
6 —	1 cm ³ 12	14 ^{mm} 5

Les deux mesures ne semblent donc pas concorder, la volumétrie accusant une stabilité relative de l'intensité de coloration, la colorimétrie au contraire manifestant une diminution sensible de cette intensité.

D'après la première, la concentration de couleur initiale, au temps $t = 5$ minutes, étant supposée égale à 100, cette concentration au bout de 6 heures est

$$x = 100 \times \frac{1,12}{1,20} = 93,3$$

D'après la mesure colorimétrique elle n'est plus, au bout du même temps, que

$$x = 100 \times \frac{8,7}{14,5} = 60$$

Soit une diminution de 6,7 % dans le premier cas et de 40 % dans le second.

(1) Les mesures colorimétriques, en raison de la variation de la teinte, ne sont qu'approximatives, mais elles sont cependant suffisantes pour se rendre compte de l'allure du phénomène.

Tout se passe donc comme si l'on était en présence de deux phénomènes différents.

En réalité cela semble bien confirmer notre hypothèse sur l'état colloïdal du corps bleu formé. Les mesures volumétriques ci-dessus montrent en effet que la *quantité* de matière colorante reste constante, sauf une légère diminution due probablement à une réoxydation partielle du sous-oxyde de molybdène.

Quant à la diminution d'intensité et au changement de teinte accusés par le colorimètre, ils ne feraient que traduire des changements dans la constitution du colloïde.

EN RESUME

1° La stabilité de l'« indice permanganique » est beaucoup plus considérable qu'on aurait pu le penser.

1° Cette stabilité, opposée à la « labilité » de la teinte, nous paraît un argument en faveur de la constitution colloïdale de la couleur bleue.

CHAPITRE III

Conclusions

Comme les deux méthodes de Folin et Wu et de Fontès et Thivolle reposent sur le même principe (formation d'une matière colorante bleue aux dépens de l'oxydure de cuivre et d'un réactif phospho-molybdique), les mêmes causes d'erreur interviennent (1). Seuls les modes d'appréciation du « bleu » diffèrent et ce sont les avantages et inconvénients de chacun d'eux qui doivent décider en faveur de l'une ou l'autre méthode, — avec la réserve formelle que dans les deux méthodes il est nécessaire de ne comparer que des solutions de titre voisin ($\pm 10\%$ par exemple).

En faveur de la méthode Folin-Wu on peut faire valoir :

1° La constance de la sensibilité inhérente à la méthode colorimétrique (Cf. Fleury, B. 29) (2).

2° Le mode opératoire bien plus simple (pas de centri-

(1) En fait nos dosages comparatifs nous ont montré que la précision des résultats obtenus par l'une et l'autre méthode est du même ordre.

(2) La question du virage n'intervient pas ici, et c'est encore un léger avantage sur la méthode de Fontès et Thivolle où ce virage est relativement peu net.

fugation, pas de lavage) supprimant ainsi des causes de perte et de réoxydation.

En faveur de la méthode Fontès-Thivolle on peut faire valoir surtout la stabilité de l' « indice permanganique » opposé à la labilité de la couleur dans le procédé Folin-Wu.

Le choix de l'opérateur sera donc guidé par des motifs d'ordre pratique : par exemple selon qu'on disposera ou non d'une bonne centrifugeuse ou d'un colorimètre.

Mais nous ne dissimulerons pas, que s'il fallait choisir entre les deux, notre préférence irait à la méthode de Folin et Wu aussi exacte et plus rapide.

TROISIEME PARTIE

Etude de la méthode de Lehmann et de ses modifications

CHAPITRE PREMIER

Exposé de la méthode et de ses diverses modifications

Lehmann [B. 31], en 1897, a mis au point une méthode de dosage des sucres réducteurs basée sur le principe suivant indiqué déjà par de Haen en 1853 ([B. 33-34]).

Quand on verse dans une solution acide d'un sel cuivrique (par exemple de sulfate de cuivre), de l'iodure de potassium, il se forme de l'iodure cuivreux et de l'iode est libéré suivant l'équation :



De sorte qu'en titrant l'iode libéré par une solution d'hyposulfite on peut connaître la teneur en cuivre de la solution cuivrique.

Si l'on fait un tel dosage avant et après la réduction, on a par différence la quantité de cuivre réduit et par suite, en se reportant à des tables de correspondance, la proportion de sucre réducteur.

Méthode très simple en apparence et qui, après Lehmann, tenta de nombreux chimistes : Riegler, Garnier, etc.

RIEGLER [B. 32] opérait ainsi : il titrait d'abord la solution cupro-potassique, de formule analogue à celle de Fehling ou de Bertrand. Il mélangeait 20 cm³ de celle-ci, qu'il étendait d'eau, avec 2 cm³ d'acide sulfurique pur et 4 gr. d'iodure de potassium. Au bout de 10 minutes, il titrait l'iode libéré au moyen d'une solution N/10 d'hyposulfite de soude. Il opérait ensuite la réduction en portant quelques secondes à l'ébullition le mélange de liqueur cuivrique et de solution sucrée. Il filtrait la solution sur un filtre épais, lavait l'oxydure restant, et dans le filtrat dosait comme ci-dessus le cuivre en excès. Il avait ainsi par différence le cuivre réduit à partir duquel les tables de Soxhlet lui donnaient le glucose réducteur.

Inutile de dire quelles causes d'erreur pouvaient apporter la filtration et le lavage de l'oxydure sur le filtre.

L. GARNIER [B. 35], voulant éviter ces inconvénients, remplaça la filtration par la décantation, en laissant reposer l'oxydure pendant 2 à 4 heures. Ce n'était pas simplifier la méthode. Il la compliquait encore en opérant par tâtonnement au moyen de deux burettes contenant, la première, une solution iodée et l'autre une solution d'hyposulfite pour rendre plus visible la fin du virage.

Le terme de la décoloration de l'iode par la solution titrée d'hyposulfite est en effet, ici, difficile à saisir; car les affusions successives d'hyposulfite, rompant à chaque instant l'équilibre de la réaction, tendent à libérer de nouvelles quantités d'iode.

GRIMBERT, en 1913 [B. 36], a indiqué le moyen suivant de remédier à cette dernière difficulté : il opère en liqueur suffisamment diluée et pas trop acide. Au moment du titrage il ajoute un excès connu d'hyposulfite et dose, au moyen d'iode N/10, l'hyposulfite qui n'est pas entré en combinaison avec l'iode libéré.

Voici la technique qu'il indique :

Dans un premier dosage, qui peut être fait une fois pour toutes, on détermine la teneur en cuivre de la liqueur cuivrique employée et qui est celle de Bertrand : dans un ballon jaugé de 200 cm³ on verse 20 cm³ de liqueur cuivrique, 20 cm³ de liqueur alcaline et on complète à 200 cm³ avec de l'eau distillée. Dans une fiole conique on mesure 50 cm³ du mélange précédent ; on ajoute 10 cm³ d'acide sulfurique au 1/10^e et 10 cm³ d'iodure de potassium à 20 %. Après quelques minutes on verse 10 cm³ d'hyposulfite N/10 et on titre l'excès d'hyposulfite à l'aide d'iode N/10 en présence d'eau amidonnée comme indicateur.

Soit n le nombre de cm³ d'iode employés. La quantité de cuivre contenu dans la prise d'essai est donnée par la formule :

$$p = (10 - n) \times 0,00635$$

et $p \times 4$ donne le poids de cuivre contenu dans 20 cm³ de la liqueur cuivrique.

La seconde partie du dosage s'opère de la façon suivante : dans une fiole conique on verse 20 cm³ de solution A, 20 cm³ de solution B et un volume de solution sucrée au plus égal à 20 cm³ et renfermant moins de 100 mgr. de sucre réducteur. On complète, si nécessaire, à 60 cm³ avec de l'eau distillée. On porte à l'ébullition qu'on maintient exactement 3 minutes. On retire alors la fiole du feu et on en transvase le contenu dans un ballon jaugé de 200 cm³. On rince plusieurs fois la fiole avec de l'eau distillée bouillie et on complète à 200 cm³ après avoir refroidi le ballon dans un courant d'eau.

On filtre, et dans 50 cm³ du filtrat on dose le cuivre comme ci-dessus.

La différence entre les deux dosages donne la quantité de cuivre réduit par la solution sucrée. En se reportant aux tables de Bertrand on a le poids de sucre contenu dans la prise d'essai et par suite le sucre par litre de la solution à doser.

Cette méthode, qui constitue un notable progrès sur la méthode de Lehmann, présente néanmoins comme elle l'inconvénient qui tient à la filtration, — source d'erreurs, faibles en elles-mêmes, mais qui peuvent devenir importantes lorsqu'on dose de très petites quantités de sucres.

Il était donc indiqué de chercher à supprimer cette filtration.

MAQUENNE, en 1898 [B. 37] tenta cette suppression : il effectuait le titrage sur le liquide non filtré, tenant en suspension l'oxydure de cuivre, en présence d'un grand excès d'acide sulfurique. Voici sa technique :

Dans une fiole à fond plat de 125 cm³ on verse 10 cm³

de liqueur de Fehling, une quantité de liquide sucré contenant moins de 50 mgr. de glucose et de l'eau pour compléter à 30 cm³. On chauffe rapidement et on porte à l'ébullition pendant 2 minutes. On refroidit et on ajoute sans filtrer 20 cm³ d'acide sulfurique au $\frac{1}{2}$ et 10 cm³ d'iodure de potassium à 10 %. On titre immédiatement par de l'hyposulfite à 2 %. La liqueur de Fehling a été titrée d'avance par le même procédé. Du cuivre réduit, en se reportant à la table donnée par Maquenne, on déduit la quantité de sucre interverti.

Le grand excès d'acide sulfurique a pour but de faciliter la réaction de KI sur SO⁴ Cu.

Mais il est à prévoir que l'acide, agissant sur l'oxydule, le transformera partiellement en sel cuivrique, et que ce dernier, agissant à son tour sur l'iodure pour libérer de l'iode, viendra fausser le dosage.

Il est facile de s'en rendre compte par l'expérience suivante : On mélange dans un ballon 40 cm³ de liqueur de Bertrand et 20 cm³ d'une solution de glucose à 5 p. 1.000 par exemple. On porte à l'ébullition comme pour la méthode de Bertrand. On recueille l'oxydule formé sur filtre d'amiante; on lave plusieurs fois à l'eau distillée bouillie jusqu'à ce qu'il ne reste plus de sel cuivrique sur le filtre; on le vérifie en ajoutant à la dernière eau de lavage de l'iodure de K et de l'acide sulfurique : il ne doit pas se libérer d'iode.

On verse alors sur l'oxydule (maintenu sous l'eau distillée bouillie pour éviter l'action de l'air) un mélange d'iodure de K et d'acide sulfurique dilué, préparé extem-

poranément. Le liquide qui filtre est jaune et bleuit l'amidon : il s'est donc dégagé de l'iode.

Ce procédé de dosage, séduisant en apparence par sa simplicité, nous semble par conséquent inutilisable dans ces conditions.

MODIFICATION DE BRUHNS-SCHOORL-KOLTHOFF

G. Bruhns, en 1917 [B. 38 à 45], puis Schoorl et Kolthoff [B. 46-47-48-49] indiquèrent une nouvelle modification de la méthode de Lehmann. Elle consiste dans le remplacement, par du sulfocyanure de potassium, d'une partie de l'iodure employé dans le dosage.

Bruhns, chimiste allemand, préoccupé du dosage des sucres au point de vue industriel, au cours de la guerre, invoquait, pour recommander cette modification, la raison de l'économie d'iodure de potassium, — raison qui a beaucoup perdu de sa valeur à l'heure actuelle.

Quoiqu'il en soit, voici la technique indiquée par Schoorl et Kolthoff :

TECHNIQUE DE SCHOORL ET KOLTHOFF :

Elle comporte l'emploi des solutions suivantes :

- 1° Liqueur cuivrique (Formule de Fehling) ;
- 2° Liqueur alcaline (Formule de Fehling) ;
- 3° Solution d'iodure de K normale, c'est-à-dire à 16,6 % ;
- 4° Solution d'H Cl 6 N, c'est-à-dire à 21 gr. 9 % ,
ou d'SO⁴ H² 4 N, c'est-à-dire à 19,6 % ;
- 5° Solution de sulfocyanure de K à 20 % ;
- 6° Solution d'hyposulfite de soude N/10.

Comme dans la technique de Lehmann, le dosage comporte deux phases :

1° *Titrage de la solution cuivrique* : On verse dans une fiole conique 10 cm³ exactement mesurés de solution cuivrique, 10 cm³ de solution alcaline. On complète à 50 cm³ avec de l'eau. On ajoute 1 cm³ de solution de KI en agitant, puis 10 cm³ de solution d'acide; on agite très vite, et aussitôt après 10 cm³ de solution de sulfocyanure. On titre l'iode libéré avec l'hyposulfite, en présence d'empois d'amidon comme indicateur.

En multipliant le Nombre N de cm³ d'hyposulfite employés par 0,00635 on a en grammes la quantité de cuivre contenue dans la prise d'essai.

2° *Réduction, puis titrage de la solution réduite* : Dans un vase on mesure exactement 10 cm³ de solution cuivrique et 10 cm³ de solution alcaline; on ajoute la liqueur sucrée à doser et on complète à 50 cm³ avec de l'eau. On porte à l'ébullition qu'on maintient pendant 2 minutes. On refroidit rapidement. On ajoute comme ci-dessus 1 cm³ de solution d'iodure, 10 cm³ de solution d'acide et 10 cm³ de solution de sulfocyanure, en agitant après chaque addition. On titre l'iode libéré.

En multipliant le nombre *n* de cm³ d'hyposulfite employés par 0,00635 on a la quantité de cuivre qui n'a pas été réduit. Par différence on a le cuivre réduit.

En se reportant aux tables de correspondance établies par Schoorl on a la quantité de glucose contenu dans la prise d'essai.

Il nous paraît évident qu'en se mettant dans les conditions de la méthode de Bertrand, — c'est-à-dire en pre-

nant 20 cm³ de solution A, 20 cm³ de solution B de Bertrand et 20 cm³ de solution sucrée et en portant à l'ébullition pendant 3 minutes, — on peut se servir, pour la lecture du glucose, des tables de cet auteur. C'est ce que nous avons fait, n'ayant pu nous procurer les tables de Schoorl, pour essayer la méthode et la vérifier.

Les résultats obtenus dans ces conditions furent satisfaisants. On les trouvera plus loin (pp. 104 et 106).

De plus nous constatâmes les avantages suivants :

1° Suppression de la filtration; par conséquent rapidité plus grande du dosage d'une part, et d'autre part diminution des chances d'erreur inhérentes aux manipulations.

2° Netteté du virage. Alors que dans le procédé de Lehmann des recolorations successives venaient troubler la fin de la réaction et gêner la lecture, ici le sulfocyanure semble avoir pour effet de bloquer la réaction, de suspendre le dégagement subséquent d'iode pendant près d'une heure dans le dosage de la solution cuivrique et même de le supprimer définitivement dans le dosage de la solution réduite.

3° Economie enfin, bien que ce facteur, mis au premier rang par Bruhns, soit d'importance secondaire dans le cas qui nous intéresse.

Remarques : Sur cette façon de procéder Kolthoff note quelques remarques que personnellement nous avons faites de notre côté :

Après l'addition d'iodure et d'acide la solution cuivrique prend une coloration verte, et la formation d'un abondant précipité brun suit l'adjonction du sulfocyanure.

Cette coloration brune disparaît à mesure qu'on ajoute l'hyposulfite. On n'obtient pas finalement un liquide incolore, comme on pourrait le prévoir, mais présentant une teinte rosée à cause des traces de fer contenues dans l'acide sulfurique et qui forment du sulfoeyanure ferrique rose. Le virage est néanmoins très net si l'on se sert d'empois d'amidon comme indicateur.

Kolthoff note qu'on trouve, sur un volume de 50 cm³, 0 cm³ 05 d'hyposulfite en moins, — quantité que l'on doit donc ajouter au résultat obtenu. Ceci pour le dosage du cuivre. Mais puisque c'est un dosage par différence que nous faisons ici la rectification n'est pas utile.

Un acide fort est nécessaire, car en solution neutre ou acétique les résultats obtenus sont tout à fait différents. Kolthoff emploie indistinctement l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique; il semble cependant donner la préférence à ce dernier. Mais celui-ci a parfois le grave défaut de contenir des traces de chlore libre qui libère de l'iode et vient fausser les résultats. L'acide azotique est également à rejeter à cause de la présence d'acide nitreux. C'est pourquoi nous conseillons l'emploi de l'acide sulfurique pur, bien que celui-ci parfois, mais plus rarement, soit susceptible de renfermer des traces de nitrites.

L'ordre des réactifs enfin est très important : iodure, puis acide, puis sulfoeyanure. Et Kolthoff insiste sur ce point. C'est en ceci d'ailleurs que sa technique diffère surtout de celle indiquée par Bruhns.

Bruhns opère un peu différemment : il propose de dissoudre ensemble KI et SCNK (dans la proportion de 20 gr. de KI et 130 gr. de SCNK pour 1.000 cm³ d'eau), et

d'ajouter cette solution à la liqueur réduite alcaline avant d'acidifier.

Nous croyons avec Kolthoff que c'est une erreur.

Essayant en effet les différents ordres dans lesquels il est possible de verser, immédiatement l'un après l'autre, les réactifs, nous avons obtenu, en opérant sur 10 cm³ de solution cuivrique, les résultats suivants :

Ordre des réactifs	Iode N/10 libéré
1° SCNK + KI + SO ⁴ H ²	7 cm ³ 35
2° SCNK + SO ⁴ H ² + KI	7 cm ³ 85
3° KI + SCNK + SO ⁴ H ²	7 cm ³
4° KI + SO ⁴ H ² + SCNK	7 cm ³ 85
5° SO ⁴ H ² + SCNK + KI	7 cm ³ 85
6° SO ⁴ H ² + KI + SCNK	7 cm ³ 85
Dosage de contrôle par la méthode de Grimbert	7 cm ³ 85

Il apparaît donc que dans le 1^{er} et le 3^e cas où l'iodure et le sulfocyanure sont mélangés en solution neutre les résultats sont défectueux.

Kolthoff, de son côté, faisant la même constatation, l'a expliquée par ce fait que lorsqu'on mélange en milieu neutre ou faiblement acide la solution cuivrique avec de l'iodure et du sulfocyanure de K, une petite partie de ce dernier est oxydée par l'iode en HCN et SO⁴ H² ; et il ajoute que cette oxydation ne se produit pas lorsqu'après l'addition d'iodure on verse d'abord l'acide, puis aussitôt le sulfocyanure, et qu'on titre sans attendre.

Il a vérifié ce fait dans une série d'expériences que nous avons répétées et qui se trouvent résumées dans le tableau ci-dessous :

La quantité de solution cuivrique employée doit libérer théoriquement une quantité d'iode qui consomme pour sa titration 27 cm³ 60 d'hyposulfite N/10.

K I	S C N K	ACIDE	ORDRE de l'acide p ^r rapport à SCNK	H ² O	TEMPS écoulé avant le titrage	HYPOSULFITE N/10 EMPLOYÉ
10cm ³ à 0,2 o/o	10cm ³ à 10 o/o	0		0	0	19 ^{cc} 8
id.	id.	0		0	20 min	16,5
id.	id.	0		0	40 min	13,4
id.	id.	5cm ³ SO ⁴ H ² $\frac{4}{N}$	après	0	0	25,4
id.	id.	5cm ³ Hcl $\frac{6}{N}$	après	0	0	25,6
id.	id.	5cm ³ SO ⁴ H ² $\frac{4}{N}$	avant	0	0	27,55
id.	id.	id.	après	0	40 min	25cm ³ [HCN]
id.	id.	5cm ³ Hcl $\frac{6}{N}$	avant	0	0	27,55
cm ³ à 20 o/o	id.	10cm ³ »	avant	0	0	27,54
id.	id.	10cm ³ acide acétique	avant	0	0	27 [HCN]
id.	id.	10 ^{cc} SO ⁴ H ² $\frac{4}{N}$	avant	100cm ³	0	27,57
id.	10cm ³ à 25 o/o	id.	avant	200cm ³	0	27,6
id.	20cm ³ à 25 o/o	id.	avant	300cm ³	0	27,58

Du premier de ces deux tableaux il semblerait résulter qu'on puisse indistinctement verser les réactifs dans l'ordre des expériences (2), (4), (5) ou (6) qui ont donné un résultat exact. Mais ces essais ont été faits sur la solution cuivrique non réduite. Dans le cas, au contraire, où l'on se trouve en présence d'oxyde cuivreux, l'ordre des expériences 5 (SO⁴ H² + SCNK + KI) et 6 (SO⁴ H² + KI + SCNK) est à rejeter puisque, nous l'avons vu (p. 73),

l'acide versé en premier lieu agit sur l'oxydule pour le transformer partiellement en sel cuivrique.

L'ordre de l'expérience 2 ($\text{SCNK} + \text{SO}^4\text{H}^2 + \text{KI}$) n'est pas satisfaisant non plus car, ainsi que nous le verrons plus loin (p. 87), le sulfocyanure n'agit pas directement sur l'oxydule de cuivre pour le transformer en sulfocyanure cuivreux inattaquable par l'acide, contrairement à l'iodure qui, en milieu acide, transforme Cu^2O en Cu^2I^2 .

Reste donc seul l'ordre de l'expérience 4 ($\text{KI} + \text{SO}^4\text{H}^2 + \text{SCNK}$) grâce auquel, — l'iodure empêchant l'attaque de l'oxydule par l'acide, — on retrouve exclusivement et intégralement, au dosage, l'iode libéré par le sel cuivrique non réduit.

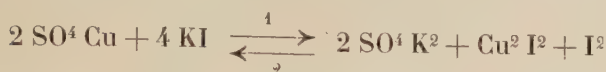
Notons cependant qu'il est nécessaire d'ajouter l'acide aussitôt après l'introduction de KI dans le cas où l'on opère avec la liqueur de Fehling, car l'expérience nous a montré que la liqueur de Fehling (surtout celle qui contient les produits d'oxydation du glucose) était capable d'absorber à la longue, dans ce milieu alcalin, une certaine quantité de l'iode qui tend à se libérer.

Une autre particularité de la technique préconisée par Bruhns c'est qu'elle met en jeu une quantité d'iodure plus petite encore que celle employée par Kolthoff : 5 cm³ de solution à 2 %, soit 0 cm³ 5 de la solution à 20 % de Kolthoff.

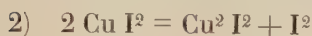
Bruhns s'appuie, pour ce faire, sur la théorie de la réaction, ou plutôt des réactions, qui est, d'après lui, la suivante :

THÉORIE DE LA MÉTHODE, D'APRÈS BRUHNS :

Si l'on se reporte à la méthode primitive de Lehmann on sait qu'elle repose sur la réaction reversible suivante :



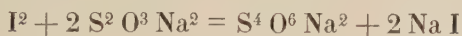
dans laquelle à vrai dire il se forme transitoirement de l'iodure cuivrique qui se décompose aussitôt en iodure cuivreux et iode. De sorte que la réaction doit plus exactement s'écrire :



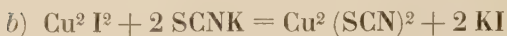
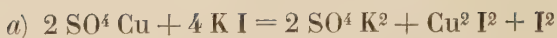
C'est une réaction d'équilibre. L'équilibre est rompu dans le sens de la flèche $\xrightarrow{1}$ si on enlève l'iode qui se dégage, si on l'empêche de réagir en sens inverse.

Dans la méthode de Lehmann l'équilibre est rompu dans ce sens par l'excès d'iodure que l'on ajoute.

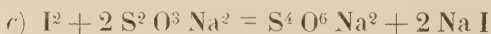
L'hyposulfite, au cours du dosage, agit aussi dans ce sens, mais plus lentement, en retransformant l'iode libéré en iodure, tandis qu'il passe lui-même sous forme de tétrathionate



Dans la méthode de Bruhns-Schoorl-Kolthoff le sulfo-cyanure, d'après Bruhns, intervient de la façon suivante : il se combine à l'iodure cuivreux pour former du sulfo-cyanure cuivreux et de l'iodure de potassium qui est ainsi régénéré, — suivant les formules :



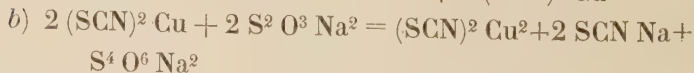
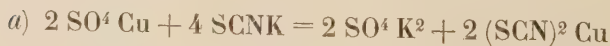
Une moitié de l'iode réagissant, celle qui était passée à l'état de $\text{Cu}^2 \text{I}^2$, est ainsi retransformée en iodure par le sulfocyanure. L'autre moitié, celle à l'état d'iode libre, est transformée en iodure par l'hyposulfite :



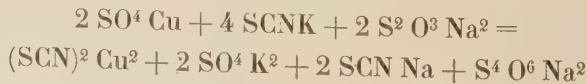
De sorte que l'iodure de potassium jouerait simplement dans la réaction un rôle d'intermédiaire. Il suffit donc de mettre la quantité juste nécessaire pour rompre l'équilibre.

Un autre avantage de la méthode, d'après Bruhns, c'est que la réaction des sels de cuivre avec les sulfocyanures n'est pas reversible comme avec les iodures, et que « le « sulfocyanure cuivreux formé, dit-il, est dix fois plus « difficilement décomposable que l'iodure cuivreux ».

Bruhns indique en outre que le sel cuivrique, même sans la présence d'iodure de K, peut être réduit directement à l'état de sulfocyanure cuivreux par le sulfocyanure de K et l'hyposulfite, comme l'expriment les formules suivantes :



que l'on peut condenser en celle-ci :



L'iodure de K, d'après Bruhns, « ne servirait donc ici

que d'indicateur et pourrait très bien n'être ajouté qu'un peu avant la fin de la réaction. Et il suffirait, d'autre part, d'en ajouter la quantité strictement suffisante pour libérer de l'iode en agissant sur les derniers restes de sel cuivrique ».

CHAPITRE II

Etude expérimentale de l'action de l'iodure et du sulfocyanure de potassium sur l'oxydure et le sulfate de cuivre

Ayant constaté les bons résultats obtenus par la méthode Bruhns-Schoorl-Kolthoff, nous avons cru intéressant de rechercher la cause de deux faits qui font la valeur de cette méthode :

1° « Stabilisation » de l'oxydure de cuivre qui, malgré sa présence au sein de la liqueur, n'occasionne aucun trouble dans le dosage.

2° Stabilité du terme de la réaction tendant à faire admettre également une « stabilisation » de l'iodure cuivreux qui ne se réoxyde pas à l'air.

Il importe cependant de remarquer que ce dernier avantage n'est pas aussi considérable qu'on pourrait le croire au premier abord. Dans la pratique en effet le virage opéré en milieu ne contenant que de l'iodure, sans sulfocyanure, reste stable 3 à 4 minutes, ce qui est en somme largement suffisant pour saisir nettement la fin de la réaction.

C'est pourquoi nous proposons plus loin, pour plus de simplicité, un procédé Lehmann modifié n'employant que de l'iodure et pas de sulfoécyanure (Cf. pp. 85 et 106).

I. — ACTION DE L'IODURE ET DU SULFOCYANURE DE K SUR L'OXYDULE DE CUIVRE

L'addition d'iodure et de sulfoécyanure de K, dans le dosage de la liqueur cuivrique réduite, semble avoir pour effet d'immobiliser, de bloquer l'oxyde cuivreux et en particulier d'empêcher son attaque par l'acide.

Pour élucider le mécanisme de cette réaction nous avons cherché à nous rendre compte de l'action de solutions aqueuses d'iodure et de sulfoécyanure, soit séparées, soit réunies, sur l'oxydule de cuivre dans diverses conditions.

Préparation de l'oxydule : L'oxydule de cuivre a été préparé par la méthode classique qui consiste à réduire la liqueur de Fehling par le glucose.

L'oxydule obtenu a été recueilli sur filtre, lavé plusieurs fois à l'eau distillée bouillie et desséché dans le vide.

A. — ACTION DE L'IODURE DE K SUR L'OXYDULE :

Dans le cas où l'iodure de K en solution aqueuse réagirait sur l'oxydule, on peut admettre qu'il y aurait mise en liberté de deux molécules de KOH pour une molécule de Cu^2O transformé en Cu^2I^2 selon l'équation :



Le titrage de l'alcalinité produite par la potasse formée

sera donc un moyen de vérifier si les deux corps mis en présence ont réagi suivant la formule ci-dessus.

Nous avons fait des essais successivement en milieu neutre, alcalin et acide.

1° *En milieu neutre* : Dans 20 cm³ d'eau nous avons mis en présence 0 gr. 357 d'oxydure et un excès d'iodure (4 gr. environ) qui devaient libérer, s'ils réagissaient, une quantité de potasse correspondant à 5 cm³ de solution normale.

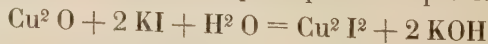
Après 5 minutes de contact le mélange était resté absolument neutre. La réaction ne s'était pas produite.

2° *En milieu alcalin* : La même expérience fut faite en présence de 5 cm³ de soude N. Le titrage après un contact de 5 minutes à froid ne révéla aucune alcalinité supplémentaire.

L'ébullition ne changea pas le résultat.

3° *En milieu acide* : Nous avons mis en contact 0 gr. 127 d'oxydure et un excès d'iodure, soit 4 gr., en présence de 10 cm³ d'acide sulfurique N. Après quelques minutes 10 cm³ de soude N furent ajoutés pour neutraliser exactement l'acide sulfurique. Puis, la réaction étant nettement alcaline, nous fîmes le titrage avec de l'acide sulfurique N en présence d'hélianthine comme indicateur : 17 cm³ 5 furent employés. Le chiffre théorique était 17 cm³ 7.

On peut donc considérer pratiquement que la réaction



se produit en milieu acide, — ou plus exactement que l'oxydure de cuivre est capable de se combiner immédiatement à l'acide iodhydrique selon l'équation :



Nous devons faire remarquer d'ailleurs que le fait est déjà connu pour HCl (1).

C'est de plus ce que confirme la pratique. Si à de l'oxydure de cuivre on ajoute d'abord de l'acide sulfurique (par exemple quelques cm^3 de notre solution au 1/5), puis de l'iodure de potassium (quelques cm^3 également de notre solution au 1/5) il se dégage une notable quantité d'iode. L'oxyde cuivreux en effet, réagissant avec l'acide sulfurique, s'est transformé en sel cuivrique.

Mais si à la même quantité d'oxydure on ajoute d'abord l'iodure de potassium puis l'acide sulfurique, ce dernier forme avec l'iodure de l'acide iodhydrique et on ne constate la libération que d'une trace d'iode (neutralisée par moins d'une goutte d'hyposulfite N/10).

Pratiquement donc il semble bien qu'en inversant la technique de Lehmann, c'est-à-dire en mettant l'iodure avant l'acide dans la solution de cuivre réduite et non filtrée, aucune libération d'iode provenant de l'oxydure ne viendra fausser le résultat.

L'expérience nous a donné raison. Ayant en effet opéré, sur une solution de cuivre réduite par 25 mgr. de glucose, le dosage suivant les trois méthodes : de Lehmann-Grimbert, de Lehmann ainsi modifiée et de Kolthoff, nous avons trouvé :

Avec la 1 ^{re} (Lehmann-Grimbert).....	24 mgr. 90
Avec la 2 ^e (Lehmann modifiée : KI + acide sans filtrer)	24 mgr. 90
Avec la 3 ^e (Schoorl-Kolthoff).....	24 mgr. 95

(1) Cf. MASSON. *Traité de Chimie minérale*, tome V, p. 49.

Une seconde série de dosages nous donne, avec les trois techniques, le même chiffre de 25 mgr. 1.

D'autres dosages rapportés plus loin (pp. 105 et 107) confirment encore ce résultat.

B. — ACTION DU SULFOCYANURE DE K SUR L'OXYDULE :

On pouvait penser que le sulfocyanure réagirait d'une façon analogue. Des essais furent faits, copiés exactement sur les précédents. Et nous aboutîmes aux résultats suivants :

1° *En milieu neutre* : Pas de réaction.

2° *En milieu alcalin* : Pas de réaction.

3° *En milieu acide* : Nous avons mélangé 0 gr. 114 d'oxyde cuivreux + 10 cm³ de sulfocyanure de K à 20 % + 40 cm³ d'acide sulfurique N. La réaction se produisant, la quantité théorique de potasse libérée devait correspondre à 15 cm³ 9 de solution normale.

Après un contact à froid de 5 minutes le titrage n'indiqua aucune réaction. Ce n'est qu'au bout de 24 heures qu'il se produisit une diminution de l'acidité correspondant à 11 cm³ de solution N, indiquant une réaction partielle.

Par conséquent, lorsque dans le dosage du glucose on ajoute à la liqueur réduite iodure, sulfocyanure et acide, l'iodure doit immédiatement réagir sur l'oxydule en donnant de l'iodure cuivreux, — tandis que le sulfocyanure doit rester pratiquement sans action.

II — ACTION DE L'IODURE ET DU SULFOCYANURE SUR LE SULFATE DE CUIVRE

Cette action peut-être étudiée en se plaçant à deux points de vue différents.

Tout d'abord, sachant que la réaction de KI sur $\text{SO}_4 \text{ Cu}$ est une réaction d'équilibre (Cf. p. 81) on peut se demander quelle est l'influence de la concentration en KI et aussi du sulfocyanure sur l'équilibre de cette réaction.

Cette étude ne peut évidemment nous donner aucun renseignement sur la cause de la « stabilisation » du terme de la réaction, puisque de toute façon, par action de l'hyposulfite, on élimine l'iode, rompant ainsi l'équilibre en faveur de la transformation totale du cuivre en sel cuivreux.

Cependant il nous a semblé intéressant de voir si la concentration en iodure était capable de faire varier l'équilibre par un mécanisme en somme tout à fait comparable à celui que P. Fleury a mis en évidence dans l'action de l'iode sur les solutions d'acide arsénieux [B. 50] et aussi de voir si le sulfocyanure était capable de produire le même phénomène.

En deuxième lieu, on peut chercher à déterminer la nature du précipité obtenu dans la méthode Bruhns-Schoorl-Kolthoff. La constitution de ce précipité nous expliquerait peut-être pourquoi le virage est bien plus stable.

Or il résulte des équations posées par Bruhns que le sulfocyanure serait capable de faire double décomposition

avec l'iodure cuivreux (1). Nous avons cherché d'abord à contrôler l'exactitude de ce fait. Puis nous avons examiné si la réaction inverse était possible.

Ces deux questions élucidées, la question de la nature du précipité était par le fait même résolue. Il ne restait plus qu'à la soumettre au contrôle de l'expérience.

A. — RÔLE DE L'IODURE ET DU SULFOCYANURE DE K
DANS L'ÉQUILIBRE DE LA RÉACTION :

1° *Rôle de l'iodure :*

Pour mettre en évidence le rôle de l'iodure de potassium dans l'équilibre de la réaction il suffit d'opposer, dans une série d'expériences, du sulfate de cuivre avec des proportions d'iodure allant en croissant depuis la quantité théorique, et de déterminer la quantité d'iode libérée en fonction de la teneur en iodure. Pour la détermination de l'iode libéré nous ne pouvions évidemment pas nous servir de l'hyposulfite, puisque par le titrage même nous aurions déplacé l'équilibre pour une double raison : élimination de l'iode et formation d'iodure. Nous avons eu alors recours à la méthode colorimétrique qui nous permet d'observer et de mesurer le phénomène sans le modifier.

Voici le dispositif de nos expériences : comme liqueur type d'iode qui va nous servir de terme de comparaison nous prenons une liqueur qui contient dans 50 cm³ la quantité d'iode libérée, dans le cas d'une réaction totale,

(1) Selon l'équation : $\text{Cu}^2 \text{I}^2 + 2 \text{SCNK} = (\text{SCN})^2 \text{Cu}^2 + 2 \text{KI}$.

par 5 cm³ de solution A de Bertrand. Cette quantité représente, dans le cas présent, 7 cm³ 6 de solution N/10 d'iode. Dans chacune de nos expériences nous introduisons dans ce liquide de comparaison une quantité d'iodure de K égale à celle dont nous essayons l'action sur l'équilibre, de façon à ce que la composition des deux liqueurs soit aussi voisine que possible.

D'autre part, à 5 cm³ de la solution cuivrique (de Bertrand) nous ajoutons une dose donnée d'iodure de K (depuis la dose théorique, c'est-à-dire 0 gr. 269, jusqu'à 8 fois cette dose), puis 10 cm³ d'acide sulfurique au 1/5 et de l'eau pour compléter à 50 cm³.

Au bout de 5 minutes nous centrifugeons et nous comparons au colorimètre le liquide surnageant avec notre solution type. Dans ces conditions les hauteurs observées sont en raison inverse du rendement de la réaction. Voici nos résultats :

Expérience avec : 5 cm³ de solution de SO⁴ Cu + KI + 10 cm³ SCNK 1/5 + eau qs. pour 50 cm³.

K I Nombre de doses théoriques (1)	Hauteur théorique	Hauteur observée	Rendement de la réaction %.
1	5 mm	22 mm	22,8
2	5 mm	9 mm	55,6
4	5 mm	6 mm	83,3
8	5 mm	5 mm	100

(1) La dose théorique est de 0 gr. 269.

On voit donc que l'influence de l'iodure de K est très nette. Avec la quantité théorique le rendement n'atteint pas le quart. Il faut 8 fois cette dose pour une libération totale.

Il faut d'ailleurs remarquer que ces chiffres ne valent probablement que pour l'acidité indiquée. Ils seraient autres, sans doute, si on faisait varier la quantité d'acide sulfurique; mais nous avons employé cette teneur en acide parce qu'elle correspond à celle utilisée dans la pratique du dosage.

2° *Rôle du sulfocyanure :*

Pour mettre en évidence l'action du sulfocyanure sur l'équilibre, nous avons employé un procédé tout à fait semblable.

Au liquide contenant les 5 cm³ de solution de sulfate de cuivre et la quantité d'iodure théorique (1) nous ajoutons des quantités croissantes de sulfocyanure de K, depuis 0 gr. 2 jusqu'à 1 gr.

Après avoir ajouté 10 cm³ d'acide sulfurique au 1/5, complété à 50 cm³ et centrifugé, nous comparons au colorimètre le liquide surnageant avec notre liqueur type d'iode contenant la même dose de sulfocyanure et d'acide. Voici nos résultats :

Expérience avec : 5 cm³ de sol. de SO⁴ Cu + 0 gr. ³ KI + SCNK + 10 cm³ SO⁴ H² au 1/5 + eau qs. p^r 50 cm³.

S C N K	Hauteur théorique	Hauteur observée	Rendement %
0 gr. 2	5	5,6	89,2
0 gr. 4	5	5,3	94,5
1 gr.	5	5	100

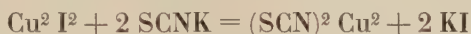
(1) En réalité un peu plus : 0 gr. 300.

L'influence du sulfoeyanure sur l'équilibre est donc très nette et l'on doit certainement faire intervenir cette influence dans toute tentative d'explication du mécanisme de la méthode Schoorl-Kolthoff et Bruhns (1).

B. — CONSTITUTION DU PRÉCIPITÉ DE LA MÉTHODE
SCHOORL-KOLTHOFF :

1° Action du sulfoeyanure de K sur l'iodure cuivreux :

Il s'agit, nous l'avons vu, de vérifier l'exactitude de la réaction



Nous avons pour cela préparé une certaine quantité d'iodure cuivreux pur en traitant une solution aqueuse de sulfate de cuivre par l'iodure de potassium en présence d'un excès de SO^2 . Le produit, soigneusement lavé, fut séché dans le vide.

Du sulfoeyanure cuivreux fut préparé en utilisant une méthode semblable.

Pour nous rendre compte si la réaction ci-dessus avait

(1) Nous avons cherché à étudier l'action de l'alcool sur l'équilibre de la réaction par analogie au phénomène suivant observé par P. Fleury [B.50] : que, dans l'action de l'iode sur l'acide arsénieux, l'alcool déplace l'équilibre dans le même sens que l'iodure. Mais nos recherches ont été arrêtées par ce fait qu'en présence d'alcool il y a libération continue d'iode. Nous sommes portés à attribuer ce fait à la présence de cuivre catalysant l'oxydation de l'acide iodhydrique par l'oxygène de l'air, car nous avons observé cet autre fait curieux que l'iodure cuivreux en milieu acide est sensiblement soluble dans l'alcool sous une forme que nous n'avons pu déterminer.

Comme conséquence pratique, il sera bon, si l'on veut appliquer la méthode de Lehmann ou ses modifications au sang, d'éliminer dans la plus large mesure possible, par évaporation simple ou par distillation, l'alcool qui aura pu servir à la défécation.

lieu, nous nous étions tout d'abord proposé de mettre en évidence la mise en liberté d'iodure de K résultant de la réaction, en traitant le filtrat par l'azotate d'argent en milieu ammoniacal. Dans ces conditions un trouble ou un précipité indique la présence d'un iodure, le sulfocyanure d'argent étant soluble dans l'ammoniaque. Mais, en réalité, nous avons constaté que la solution aqueuse de sulfocyanure dissout toujours assez d'iodure cuivreux pour que la réaction soit constamment positive.

Nous avons alors pensé à rechercher dans le précipité, après réaction, la présence de sulfocyanure cuivreux, en utilisant la remarque suivante :

Quant on traite par l'eau de brome un mélange d'iodure cuivreux et de sulfocyanure cuivreux, l'iodure cuivreux est transformé, au moins partiellement, en iodate, et le sulfocyanure en sulfate.

Nous avons alors traité, en milieu acide, de l'iodure cuivreux par du sulfocyanure de potassium en solution diluée. La partie insoluble fut lavée pour éliminer le sulfocyanure de potassium en excès, puis dissoute dans quelques centimètres cubes d'eau bromée. Si le précipité contenait du sulfocyanure cuivreux, la dissolution devait renfermer du sulfate. C'est en effet ce que révéla l'addition de chlorure de baryum.

Le sulfocyanure de potassium et l'iodure cuivreux ont donc réagi.

Essai quantitatif :

Désireux de nous rendre compte, d'une façon au moins approximative, de l'importance de la réaction, nous avons tenté quelques essais quantitatifs.

Pour cela il nous a d'abord fallu vérifier si tout le soufre du sulfoeyanure cuivreux passe, par l'action du brome, sous forme de sulfate.

Un poids p de sulfoeyanure cuivreux étant dissous par le brome, nous avons dosé le sulfate formé par la méthode à la benzidine, de Rasching [B. 51-52-53].

Dans notre expérience nous avons opéré sur 0 gr. 0532 de sulfoeyanure cuivreux que nous avons agité dans un tube à essai avec quelques centimètres cubes d'eau bromée. L'excès de brome fut chassé par ébullition. Cette solution versée dans un verre de 500 cm³, nous l'avons neutralisée par de la soude N (jusqu'à précipitation de sels de cuivre) et acidifiée légèrement avec 2 cm³ d'HCl au 1/10.

Nous avons alors ajouté 350 cm³ de solution de benzidine (contenant 2 gr. de benzidine et 2 gr. 50 d'HCl pour 1.000), agité et laissé reposer 20 minutes. Nous avons ensuite filtré, lavé le précipité sur filtre pour éliminer l'acidité. Puis, le filtre et le précipité étant introduits dans une fiole conique avec de l'eau additionnée de III gouttes de solution de phtaléine à 2 %, nous avons porté à l'ébullition pour hydrolyser, puis titrer, au moyen de soude N/10 l'acide sulfurique libéré.

Nous employâmes 8 cm³ 4 de soude. La quantité théorique était 8 cm³ 7.

La réaction peut donc être considérée comme pratiquement totale.

Ce fait nous a alors permis d'étudier l'action du sulfoeyanure de K sur l'iodure cuivreux, en milieu neutre

d'abord, puis en milieu acide, d'une façon à peu près quantitative.

1° *En milieu neutre :*

Un poids connu d'iodure cuivreux fut mélangé avec un léger excès de sulfocyanure de K en solution. Après une heure le dépôt, resté blanc, fut séparé par centrifugation et lavé jusqu'à ce que l'eau de lavage ne rougisse plus par addition d'un sel ferrique. Le précipité fut alors dissous au moyen du brome et la réaction des sulfates essayée sur cette dissolution : elle fut négative.

La même expérience fut répétée en laissant les deux sels, iodure et sulfocyanure, en contact pendant trois semaines. Au bout de ce temps la réaction des sulfates était encore négative.

La réaction étudiée ne se produit donc pas en milieu neutre.

2° *En milieu acide :*

Nous avons mis en contact 0 gr. 085 d'iodure cuivreux avec 10 cm³ de solution de sulfocyanure de K à 20 % et 10 cm³ d'HCl au ½. Au bout de 10 minutes le précipité fut séparé et lavé, puis dissous par le brome. L'excès de brome ayant été chassé par l'ébullition, la solution fut neutralisée et le sulfate formé fut dosé par la méthode à la benzidine.

Un précipité abondant de sulfate de benzidine se produisit et l'acide sulfurique libéré par hydrolise de ce précipité nécessita pour sa neutralisation 7 cm³ de soude N, ce qui correspondait à 0 gr. 042 de sulfocyanure cuivreux.

Si la réaction s'était produite intégralement on aurait

dû employer 8 cm³ 95 de soude, correspondant à 0 gr. 054 de SCNCu. La transformation est donc de 75 % environ.

Un nouvel essai fut fait en laissant les sels en contact pendant 3 heures. La quantité de soude alors employée fut 7 cm³ 5, correspondant 0 gr. 045 de sulfocyanure cuivreux, — soit une transformation de 80 % environ.

Nous avons tenté des expériences en prolongeant le contact plusieurs jours; mais nos essais furent entravés par les produits de décomposition de l'acide sulfocyanique qui venaient souiller le précipité.

Il y a donc transformation importante de l'iodure cuivreux en sulfocyanure cuivreux.

Mais, notre méthode d'analyse n'étant qu'approximative, nous avons tenu à nous assurer que le précipité qui avait été au contact du sulfocyanure de K contenait encore de l'iodure, en utilisant l'eau de brome qui transforme, au moins partiellement, l'iodure en iodate.

Comme nous sommes en milieu acide (HBr), il doit suffire d'ajouter de l'iodure de K pour libérer de l'iode, s'il s'est formé de l'iodate. L'expérience le vérifie.

D'autre part le sulfocyanure cuivreux ainsi traité ne donne rien de semblable. Enfin un mélange iodure cuivreux et sulfocyanure cuivreux traité de la même façon donne une libération d'iode.

Cette réaction n'est d'ailleurs pas quantitative, comme le prouve l'expérience ci-dessous; mais elle est suffisante pour être appliquée au but poursuivi.

Expérience : Nous prenons un poids d'iodure cuivreux tel que la quantité d'iode libérée soit égale à 0 gr. 127. c'est-à-dire correspondante à 10 cm³ de solution N/10, si

la réaction prévue se fait réellement, — soit 0 gr. 0314. Cette quantité de $\text{Cu}^2 \text{I}^2$ est dissoute par l'eau bromée. L'excès de brome est chassé par ébullition, et nous ajoutons à la solution un excès de KI : l'iode libéré nécessite pour son titrage 6 cm³ 8 seulement d'hyposulfite N/10, au lieu de 10 cm³.

L'iodure cuivreux ne libère donc pas tout son iode, dans ces conditions, mais seulement environ les 7/10.

Nous avons appliqué cette méthode d'analyse au précipité séparé par centrifugation dans les expériences précédentes.

a) Un premier essai nous montra qu'il y a libération d'iode, donc que le précipité contenait encore de l'iodure cuivreux non combiné, c'est-à-dire que la réaction



n'est pas intégrale.

b) Un deuxième essai, quantitatif, opéré sur 0 gr. 085 d'iodure cuivreux et un léger excès de sulfocyanure de K nous indiqua que l'iode libéré après 10 minutes de contact nécessite 3 cm³ 7 d'hyposulfite N/10 pour sa neutralisation, — ce qui correspondrait approximativement, — en admettant, d'après l'expérience précédente, que les 7/10 seulement de l'iode de $\text{Cu}^2 \text{I}^2$ sont libérés, — à 0 gr. 017 d'iodure cuivreux.

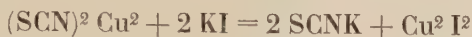
Donc, dans cette réaction où la théorie nous faisait prévoir la formation de 0 gr. 054 de sulfocyanure cuivreux, nous trouvons au dosage 0 gr. 042 de sulfocyanure cuivreux et 0 gr. 017 d'iodure cuivreux environ.

La double décomposition entre le sulfocyanure de K

et l'iodure cuivreux est donc certaine, mais elle n'est pas intégrale.

2° *Action de l'iodure de K sur le sulfocyanure cuivreux :*

D'après les résultats précédents, on pouvait se demander si la réaction étudiée est une réaction d'équilibre. C'est pourquoi nous avons examiné si se produisait la réaction inverse :



a) *Essai qualitatif :* Du sulfocyanure cuivreux fut mis en contact avec un léger excès d'iodure de K, en milieu chlorhydrique. Le dépôt fut séparé puis lavé par centrifugations successives jusqu'à ce que les eaux de lavage ne se troublent plus par addition de nitrate d'argent. Le précipité fut alors dissous au moyen du brome, et l'excès de brome chassé par ébullition.

Sur une partie de la solution nous fîmes la réaction des iodures qui fut positive : de l'iodure cuivreux s'était donc formé.

Sur le reste de la solution nous fîmes la réaction des sulfates, positive elle aussi : il restait donc du sulfocyanure cuivreux non combiné.

b) *Essais quantitatifs :*

0 gr. 100 de sulfocyanure cuivreux furent mis en contact avec 10 cm³ de solution de KI à 20 % et 10 cm³ d'HCl au 1/2.

Si la réaction était intégrale, nous devons trouver 0 gr. 160 d'iodure cuivreux.

Dans un premier essai nous fîmes le titrage immédiat : après 5 ou 6 minutes seulement de contact le précipité fut

séparé et traité comme ci-dessus. Le brome en excès ayant été chassé, la solution fut complétée à 50 cm³.

Nous en prélevâmes 10 cm³ sur lesquels nous fîmes le dosage de l'iodate formé. 10 cm³ de solution de KI à 20 % furent ajoutés et l'iode libéré fut titré au moyen d'hypo-sulfite N/10. 4 cm³ 75 furent employés, qui correspondent à 0 gr. 0222 d'iode, soit pour les 50 cm³ de solution à 0 gr. 111, dont 1/6, c'est-à-dire 0 gr. 0185, provient de l'iodate. En admettant toujours que 7/10 seulement de l'iode de l'iodure cuivreux sont libérés, cela nous donnerait 0 gr. 039 environ d'iodure cuivreux, — soit 25 % de la quantité prévue.

Sur les 40 cm³ restant nous dosâmes par la méthode à la benzidine le sulfate formé. 10 cm³ 2 de soude N/10 furent employés pour ce dosage, qui correspondent à 0 gr. 061 de sulfocyanure cuivreux, soit 0 gr. 076 pour les 50 cm³, — environ 75 % de la quantité mise en réaction.

Dans un deuxième essai les mêmes quantités de sulfocyanure cuivreux, de KI et d'acide furent laissés en contact pendant 24 heures. Dans le précipité, traité comme ci-dessus, nous trouvâmes 0 gr. 032 environ d'iodure cuivreux, soit 20 % de la quantité théorique, et 0 gr. 80 de sulfocyanure cuivreux, soit 80 % de la quantité primitive.

L'iodure de potassium, en milieu acide, agit donc sur le sulfocyanure cuivreux pour le transformer partiellement en iodure cuivreux.

ÉTUDE DIRECTE DU PRÉCIPITÉ OBTENU DANS LA MÉTHODE
SCHOORL-KOLTHOFF :

Les essais précédents répétés sur le précipité obtenu dans la méthode Schoorl-Kolthoff nous ont montré que ce précipité était composé d'un mélange d'iodure cuivreux et de sulfocyanure cuivreux, comme l'étude ci-dessus nous l'avait laissé prévoir, — mais avec prédominance, ici, de l'iodure sur le sulfocyanure.

III. — RESUME ET CONCLUSIONS

A. — DANS L'ACTION DE L'IODURE ET DU SULFOCYANURE DE K SUR L'OXYDULE DE CUIVRE, nous avons constaté que la réaction ne s'effectuait qu'en milieu acide. Mais il y a une différence très nette entre les deux corps : l'iodure agit immédiatement tandis que le sulfocyanure demande plus d'une heure avant de donner un commencement de transformation.

En pratique donc, lorsqu'on ajoute de l'acide sulfurique à une solution d'iodure de potassium tenant en suspension de l'oxydule de cuivre, il y a transformation immédiate et totale de ce dernier en iodure cuivreux sans libération d'iode. C'est ce qui explique la « stabilisation » de l'oxydule.

B. — ACTION DE L'IODURE ET DU SULFOCYANURE DE K SUR LE SULFATE DE CUIVRE :

1° *Action sur l'équilibre* : Un excès d'iodure de potassium agit en déplaçant l'équilibre dans le sens d'une libé-

ration plus complète d'iode. Il faut dans les conditions de nos expériences environ 8 fois la dose théorique. Le sulfocyanure agit dans le même sens; il suffit, dans les conditions de nos expériences, d'en ajouter un poids égal à 3 à 4 fois le poids d'iodure théorique.

En pratique, il faut opérer en présence soit d'un excès suffisant d'iodure, soit d'un mélange d'iodure et de sulfocyanure de potassium.

2° *Composition du précipité* : L'acide iodhydrique et l'acide sulfocyanique en solution aqueuse sont capables de se déplacer l'un l'autre de leurs combinaisons cuivreuses, mais jamais totalement. Il en résulte que, dans les procédés Schoorl-Kolthoff et Bruhns, le précipité doit être constitué par un mélange en proportions variables d'iodure cuivreux et de sulfocyanure cuivreux. C'est ce que vérifie l'expérience.

C'est peut-être à cette constitution du précipité qu'il faut attribuer la stabilité du virage, l'iodure cuivreux se trouvant protégé de l'action de l'air par une couche de sulfocyanure cuivreux.

CHAPITRE III

Résultats comparatifs obtenus avec les méthodes type Lehmann

Nous résumons ici en tableaux les résultats que nous avons obtenus au cours de nos essais de ces diverses méthodes.

Tous nos dosages ont été faits sur une solution de glucose à 5 gr. p. 1.000, préparée à partir d'un glucose pur et anhydre, desséché pendant 48 heures dans le vide sulfurique et dont nous avons vérifié le point de fusion. Cette solution était refaite avant chaque série de dosages, c'est-à-dire tous les 3 ou 4 jours.

Le premier tableau contient les résultats obtenus dans une série de dosages qui ont été faits pour vérifier la méthode de Schoorl-Kolthoff. Nous avons opéré suivant la technique indiquée par ces auteurs et sur des quantités de réactifs correspondant à la méthode de Bertrand afin de pouvoir utiliser les tables de ce dernier. C'est-à-dire :

A 20 cm³ de solution A et 20 cm³ de solution B de Bertrand étaient ajoutés 20 cm³ de solution sucrée, — en l'espèce 4 cm³ de solution de glucose à 5 %, contenant 20 mgr. de glucose, et 16 cm³ d'eau distillée. Ce mélange était chauffé à feu nu et maintenu 3 minutes à l'ébullition,

puis retiré du feu et refroidi aussitôt. On y ajoutait alors 1 cm³ de solution de KI à 20 %, 10 cm³ de solution d'acide sulfurique à 20 % et 10 cm³ de solution de SCNK à 20 %. L'iode dégagé était titré au moyen d'hyposulfite de soude N/10.

1 cm³ de cette solution N/10 correspondant à 6 mgr. 35 de cuivre, nous avons ainsi facilement le poids de cuivre non réduit.

La différence avec le poids de cuivre total contenu dans les 20 cm³ de solution cuivrique employés, — déterminé de la même façon, — nous donnait le poids de cuivre réduit. Un simple report à la table de Bertrand donnait le poids de glucose contenu dans la prise d'essai.

GLUCOSE TROUVÉ	ERREUR 0/0	GLUCOSE TROUVÉ	ERREUR 0/0	GLUCOSE TROUVÉ	ERREUR 0/0
1° 20 ^{mg} 03	+ 0,15	7° 18 ^{mg} 90	— 5,5	13° 19 ^{mg} 90	— 0,5
2° 20	0	8° 19,57	— 2,15	14° 19,75	— 1,25
3° 19,23	— 3,8	9° 20,10	+ 0,5	15° 19,75	— 1,25
4° 19,50	— 2,5	10° 20,05	+ 0,25	16° 20,07	+ 0,35
5° 20,10	+ 0,5	11° 18,90	— 5,5	19° 20,30	+ 1,5
6° 20,10	+ 0,5	12° 20,10	+ 0,5	18° 20,24	+ 1,2

Comme on le voit, les erreurs dans certaines expériences sont notables (5 %). Mais elles peuvent tenir en partie au mode de chauffage à feu nu que nous jugeons avec Ch.-O. Guillaumin, défectueux.

Dans le second tableau sont notés les résultats obtenus dans plusieurs séries de dosages comparatifs faites, chacune, sur une même solution de cuivre réduite, avec les diverses techniques suivantes.

La solution dans chaque cas était ainsi préparée : A 20 cm³ de solution A et 20 cm³ de solution B de Ber-

trand, dans un ballon jaugé de 200 cm³, étaient ajoutés 20 cm³ de solution sucrée renfermant soit 50 mgr., soit 25 mgr., soit 15 mgr. de glucose. Après ébullition de 3 minutes la liqueur était refroidie et complétée à 200 cm³ avec de l'eau distillée bouillie. Puis deux ou trois des dosages suivants étaient faits :

1° Sur 50 cm³, filtrés, de cette liqueur, nous dosions le cuivre non réduit par la méthode de Lehmann-Grimbert, — c'est-à-dire en ajoutant 10 cm³ d' SO⁴ H² au 1/10 et 10 cm³ de solution de KI à 20 %, puis 10 cm³ d'hyposulfite N/10 et en titrant l'excès d'hyposulfite à l'aide d'une solution d'iode N/10.

La différence avec le cuivre total dosé par la même méthode nous donnait le cuivre réduit et par suite le glucose.

2° A 50 cm³ de la liqueur *non filtrée* nous ajoutions 10 cm³ d'acide sulfurique au 1/5 puis 10 cm³ d'iodure de K à 20 %. Et nous titrions au moyen d'hyposulfite N/10 l'iode libéré.

D'où nous déduisions comme ci-dessus la quantité de cuivre réduit et de glucose.

3° A 50 cm³ de liqueur *non filtrée* nous ajoutions d'abord 10 cm³ d'iodure à 20 % puis 10 cm³ d'acide sulfurique à 10 % selon la modification à la méthode de Lehmann que nous indiquions plus haut (pp. 83 et 86). Et nous terminions comme ci-dessus.

4° Sur 50 cm³ de liqueur non filtrée nous dosions le glucose par la méthode Schoorl-Kolthoff comme dans les expériences du tableau précédent.

Voici, condensés en tableau, les résultats trouvés dans ces différents dosages :

SUR 50 ^{mg} DE GLUCOSE										
MÉTHODES	1 ^{re} SÉRIE		2 ^e SÉRIE		3 ^e SÉRIE		4 ^e SÉRIE		5 ^e SÉRIE	
	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100
1 ^o Grimbart....	50,6	+ 1,2	50,9	+ 1,8	{ 50,6 49,9	+ 1,2 - 0,2	48,5	- 3	49,9	- 0,2
2 ^o Sol. non filtrée + acide + KI.	47,9	- 4,2	47,1	- 5,8						
3 ^o Sol. non filtrée + KI + acide.					49,9	- 0,2	48,8	- 2,4	49,5	- 1
4 ^o Kolthoff. ...	50,6	+ 1,2	50,6	+ 1,2						

MÉTHODES	SUR 25 ^{mgr} DE GLUCOSE								SUR 15 ^{mgr} DE GLUCOSE	
	7 ^e SÉRIE				8 ^e SÉRIE				10 ^e SÉRIE	
	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100	Glucose trouvé	Erreur pour 100
1 ^o Grimbart....	24,90	— 0,4	24,95	— 0,2	24,95	— 0,2	25,1	+ 0,4		
2 ^o Sol. non filtrée + K I + acide.	19,60	— 21,6								
3 ^o Sol. non filtrée + acide + K I.			24,95	— 0,2	24,95	— 0,2	25,1	+ 0,4	14,9	— 0,66
4 ^o Koltthoff....	24,75	— 1	24,90	— 0,4	24,95	— 0,2	25,1	+ 0,4	14,5 14,8	— 3,3 — 1,3

Si l'addition directe de l'acide à la solution réduite donne des résultats erronés, comme nous l'avons déjà montré, on voit par contre que les résultats obtenus par la méthode de Grimbert, la méthode de Lehmann modifiée comme nous l'indiquons, et la méthode de Bruhns-Schoorl-kolthoff sont sensiblement concordants.

Ces trois méthodes ont donc même valeur au point de vue de l'exactitude, mais les deux dernières, où la filtration est supprimée, ont sur la première l'avantage d'une plus grande simplicité.

CHAPITRE IV

Adaptation de la méthode de Lehmann modifiée à la détermination de petites quantités de sucres réducteurs

I. — REMARQUES PRATIQUES

1° *Choix des réactifs :*

La cause d'erreur qui est la plus à redouter est la présence dans les réactifs de corps capables soit d'absorber de l'iode libéré, soit d'en libérer aux dépens de l'iodure.

L'acide chlorhydrique, nous l'avons vu, peut contenir parfois des traces de chlore ou quelquefois même d'anhydride sulfureux. Aussi proposons-nous l'acide sulfurique pur. Il importe également dans ce cas, cependant, de penser à la présence possible de vapeurs nitreuses.

Il faut éviter l'emploi de la lessive de soude du commerce qui nous a donné de gros ennuis. Elle est susceptible de contenir des nitrites, comme nous l'avons constaté, ou des chlorates [B. 54]. Il faut avoir recours exclusivement à la soude pure en plaques.

2° *Conservation des solutions :*

La liqueur cupro-alkaline préparée en deux solutions se conserve très bien.

La seule solution dont la variation a une grande importance est la solution d'hyposulfite, dont le titre a tendance à se modifier *à la longue*.

Bruhns conseille, pour sa conservation, de l'additionner d'un petit excès d'alcali, — environ 0 gr. 05 à 0 gr. 10 de soude pure par litre.

Kolthoff, signalant que l'altération est due à deux causes : oxydation par l'air et action de certains micro-organismes, conseille de conserver la solution en flacons pleins et bien bouchés, à l'obscurité ou à la lumière diffuse. Il recommande en outre l'addition de 0 gr. 20 de carbonate de soude et, pour arrêter l'action bactérienne, de 0 gr. 01 d'iodure mercurique par litre.

3° *Volume de liqueur cupro-alkaline employé :*

Nous étant fixé comme maximum de glucose à doser le poids de 50 mgr., nous avons été amené à réduire à 10 cm³ le volume de solution cuivrique employé. On peut alors faire le dosage de cuivre sur la totalité de la liqueur, — au lieu de diluer comme dans la méthode de Lehmann, — ce qui ne présente que des avantages. On évite ainsi les causes d'erreur inhérentes à la dilution et à la mesure des volumes de la solution diluée.

4° *Mode de chauffage :*

On sait depuis longtemps, et nous l'avons nous-même constaté à propos de la méthode de Bertrand, que la vitesse de chauffe, c'est-à-dire le temps pendant lequel la solution

reste à des températures voisines de l'ébullition, a une notable influence sur la réduction.

Le gros inconvénient du chauffage à feu nu est en effet ce manque de constance dans l'intensité des sources de chaleur employées.

Pour y remédier nous avons cherché à utiliser pour la méthode au sulfocyanure le chauffage au bain-marie, appliqué déjà par Ch.-O. Guillaumin à la méthode de Bertrand. Celui-ci opère la chauffe dans la vapeur; mais ce qui est possible et même recommandable pour un tube à centrifuger est malaisément applicable à un vase de plus grande dimension comme le ballon que nous employons.

Les raisons pour lesquelles Guillaumin adopta ce mode de chauffage n'existent d'ailleurs pas dans notre cas : un ballon en verre d'Iéna ou similaire peut être plongé sans risque de casse dans l'eau bouillante et l'on n'a pas à craindre, d'autre part, les projections de l'eau en ébullition.

Nous faisons donc notre réduction dans un ballon de 120 à 150 cm³ en verre d'Iéna que nous plongeons pendant 7 minutes dans un bain-marie en ébullition. La température du liquide du ballon suit exactement la même marche que dans la méthode de Guillaumin : elle atteint au bout de 2 minutes 80° au fond et 90° vers la surface du liquide; après 3 minutes elle atteint respectivement 90° et 95°; à partir de 4 minutes elle se maintient à 98° jusqu'à la fin de la chauffe.

5° Mode de refroidissement :

Il est depuis longtemps prouvé que l'air, surtout à

chaud, agit sur l'oxydule de cuivre pour le réoxyder et le transformer en sel cuivrique.

Ici, malgré le refroidissement rapide, la surface libre de la liqueur réduite, qui est relativement grande, se prête à cette réoxydation par l'air. Mais l'oxydule, assez lourd, se précipite au fond. Aussi importe-il surtout de ne pas agiter le ballon pendant le refroidissement afin de ne pas mettre au contact de l'air l'oxydule qui s'est déposé.

Nous conseillons donc de porter le ballon dans un bain d'eau froide et, l'y maintenant immobile, de faire couler de l'eau sur les parois (1).

6° Emploi des tables :

Les conditions étant différentes de celles où se plaçait Bertrand, nous ne pouvons utiliser ses tables. Mais, en prenant les mêmes quantités de réactifs que Guillaumin et utilisant le même mode de chauffage, nous pouvons adopter les tables de ce dernier qui sont établies pour des teneurs en glucose inférieures à 10 mgr.

7° Titre de la solution d'hyposulfite :

Pour nous permettre d'appliquer ainsi la méthode au sulfocyanure au dosage de quantités de glucose inférieures à celles que permettaient la méthode de Lehmann et ses premières modifications, il devenait nécessaire d'employer une solution d'hyposulfite à une dilution convenable.

C.-O. Guillaumin, pour avoir une plus grande sensibi-

(1) Pour éviter la rentrée brusque de l'air au moment du refroidissement on peut adapter au ballon un système de bouchon à soupape tel que le recommande Bang, par exemple, dans sa méthode (B. 19).

lité, utilise une solution de permanganate N/30. Il était tout indiqué d'adopter, dans notre méthode, une solution d'hyposulfite de titre analogue.

Nous avons donc utilisé une solution d'hyposulfite N/30 (soit à 8 gr. 266 par litre), après avoir constaté que le virage, en présence d'empois d'amidon comme indicateur, était sensible à une goutte.

II. — TECHNIQUE PROPOSEE

Tenant compte de ces quelques remarques, voici en définitive la technique à laquelle nous donnons la préférence.

A. — LISTE DES RÉACTIFS NÉCESSAIRES :

1° Liqueur cupro-alcaline de Bertrand, en deux solutions (1).

2° Solution d'iodure de potassium à 20 %.

3° Solution d'acide sulfurique à 20 %.

4° Solution de sulfocyanure de potassium à 20 %.

5° Solution d'hyposulfite de soude N/30 (soit à 8 gr. 266 par litre) (2).

(1) Solution A :

Sulfate de cuivre pur 40 gr.

Eau distillée, q. s. p^r 1000 cm³

Solution B :

Sel de Seignette..... 200 gr.

Soude pure en plaques 150 gr.

Eau distillée, q. s. p^r 1000 cm³

bonate de soude et de 0 gr. 01 d'iodure mercurique par litre (cf.

(2) Additionnée de 0 gr. 10 de soude pure ou de 0 gr. 20 de carbonate de soude (page 110).

6° Solution d'amidon à 1 % environ (1).

B. — MODE OPÉRATOIRE :

Il comporte deux parties :

1° Dosage du cuivre total contenu dans 10 cm³ de liqueur cuivrique.

2° Réduction, et dosage du cuivre non réduit.

1° *Dosage du cuivre total :*

Dans une fiole conique, par exemple, on verse : 10 cm³ très exactement mesurés de solution A de Bertrand, 10 cm³ de solution B et 20 cm³ d'eau pour obtenir un volume total de 40 cm³.

On verse, immédiatement l'un après l'autre et en agitant, 1 ou 2 cm³ de solution d'iodure, puis 10 cm³ de solution d'acide sulfurique, puis 10 cm³ de solution de sulfo-cyanure.

De l'iode se dégage que l'on titre au moyen de la solution d'hyposulfite en présence de solution d'amidon comme indicateur. Malgré la teinte rose due aux traces de fer, le virage est très net, 1 goutte d'hyposulfite suffisant à faire passer la coloration du bleu au rose franc.

Soit N le nombre de cm³ d'hyposulfite employés. Ce nombre est fixe pour une même solution cuivrique, de

(1) Nous préparons l'amidon soluble de la façon suivante indiquée par Wolff et Fernbach (B. 55).

100 gr. de fécule de pomme de terre sont mis en contact, durant 15 à 30 minutes, avec 300 cm³ environ d'HCl au 1/4000. On lave à fond sur entonnoir en porcelaine pour éliminer l'acidité et les chlorures. On étend sur papier filtre et on sèche à 30°. Puis on chauffe pendant 1 heure à 100-110°, ou pendant 8 à 10 jours à 46°.

sorte qu'on n'a pas besoin de répéter chaque fois cette première partie du dosage.

2° Réduction et dosage du cuivre non réduit :

Dans un ballon de 120 à 150 cm³ de capacité en verre résistant aux variations brusques de température (Iéna, Pyrex ou similaire) on verse :

10 cm³ de solution A de Bertrand, exactement mesurés ;

10 cm³ de solution B de Bertrand ;

20 cm³ de liqueur sucrée à doser, renfermant moins de 50 mgr. de glucose (Si le volume dont on dispose est inférieur à 20 cm³, on complète avec de l'eau distillée).

On agite pour mélanger.

Le ballon est plongé jusqu'au col dans un bain-marie bouillant où il est maintenu par une pince fixe ou par une rondelle de plomb.

Après 7 minutes on le retire et on le porte, sans agiter, dans un récipient contenant de l'eau froide ; puis, toujours sans agiter, on accélère le refroidissement en faisant couler de l'eau froide sur les parois du ballon.

Au bout de 2 ou 3 minutes le liquide est suffisamment refroidi et on peut faire le dosage du cuivre non réduit en opérant comme ci-dessus :

Les réactifs ayant été mesurés à l'avance dans trois éprouvettes ou trois tubes à essai, on verse, immédiatement l'un après l'autre et en agitant, 1 à 2 cm³ de solution d'iodure, 10 cm³ de solution d'acide sulfurique, 10 cm³ de solution de sulfoeyanure.

On titre de même par l'hyposulfite N/30 l'iode dégagé. Soit n le nombre de cm³ d'hyposulfite employés $N-n$ représentera le nombre de cm³ d'hyposulfite N/30 correspondant au cuivre non réduit.

La table de Guillaumin établie pour une solution de MnO^4K N/30 est exacte pour la solution d'hyposulfite.

Exemple : Si dans le dosage du cuivre total nous avons employé 48 cm^3 d'hyposulfite N/30 et dans le dosage du cuivre résiduel 42 cm^3 8 d'hyposulfite, la différence N-n sera égale à : $48 - 42,8 = 5\text{ cm}^3$ 2.

En nous reportant à la table de Guillaumin (que nous donnons, transposée, ci-dessous), nous voyons que cette quantité correspond à 5 mgr. 09 de glucose dans la prise d'essai.

N.-B. : Si l'on n'a pas de sulfocyanure ou si l'on trouve que la coloration rose due au sulfocyanure ferrique est gênante pour le virage, on peut très bien, comme nous l'avons montré (pp. 85 et 106) adopter simplement la technique suivante :

Ajouter à la liqueur cuivrique dans le premier cas, à la liqueur réduite dans le second cas : 10 cm^3 de solution d'iodure de potassium à 20 %, agiter, puis 10 cm^3 d'acide sulfurique à 20 %.

Titrer rapidement au moyen d'hyposulfite N/30, en présence de solution d'amidon. S'arrêter à la première décoloration, qui est d'ailleurs stable 3 à 4 minutes.

TABLE DE CORRESPONDANCE ENTRE LES VOLUMES D'HYPOLULFITE DE SOUDE N/30 ET LA TENEUR EN GLUCOSE ANHYDRE.

(Table de Ch.-O. Guillaumin adaptée à la méthode.)

HYPOSULFITE N/30 cent. cubes	GLUCOSE milligr.	HYPOSULFITE N/30 cent. cubes	GLUCOSE milligr.	HYPOSULFITE N/30 cent. cubes	GLUCOSE milligr.	HYPOSULFITE N/30 cent. cubes	GLUCOSE milligr.
0,7	0,50	6,8	6,77	12,8	13,16	18,8	19,80
1,0	0,79	7,0	6,98	13,0	13,38	19,0	20,03
1,2	0,99	7,2	7,19	13,2	13,59	19,2	20,25
1,4	1,18	7,4	7,40	13,4	13,81	19,4	20,48
1,6	1,37	7,6	7,61	13,6	14,02	19,6	20,70
1,8	1,57	7,8	7,82	13,8	14,24	19,8	20,93
2,0	1,77	8,0	8,04	14,0	14,46	20,0	21,16
2,2	1,97	8,2	8,25	14,2	14,67	21,0	22,30
2,4	2,18	8,4	8,46	14,4	14,89	22,0	23,44
2,6	2,38	8,6	8,67	14,6	15,11	23,0	24,59
2,8	2,59	8,8	8,88	14,8	15,33	24,0	25,74
3,0	2,80	9,0	9,10	15,0	15,55	25,0	26,90
3,2	3,00	9,2	9,31	15,2	15,77	26,0	28,07
3,4	3,21	9,4	9,52	15,4	15,99	27,0	29,25
3,6	3,42	9,6	9,73	15,6	16,21	28,0	30,41
3,8	3,63	9,8	9,94	15,8	16,43	29,0	31,64
4,0	3,84	10,0	10,16	16,0	16,66	30,0	32,86
4,2	4,04	10,2	10,37	16,2	16,88	31,0	34,09
4,4	4,25	10,4	10,58	16,4	17,10	32,0	35,33
4,6	4,46	10,6	10,79	16,6	17,33	33,0	36,58
4,8	4,67	10,8	11,00	16,8	17,55	34,0	37,84
5,0	4,88	11,0	11,22	17,0	17,78	35,0	39,11
5,2	5,09	11,2	11,43	17,2	18,00	36,0	40,39
5,4	5,30	11,4	11,65	17,4	18,22	37,0	41,68
5,6	5,51	11,6	11,86	17,6	18,45	38,0	42,98
5,8	5,72	11,8	12,08	17,8	18,67	39,0	44,29
6,0	5,93	12,0	12,30	18,0	18,90	40,0	45,61
6,2	6,14	12,2	12,51	18,2	19,12	41,0	46,95
6,4	6,35	12,4	12,73	18,4	19,35	42,0	48,31
6,6	6,56	12,6	12,94	18,6	19,57	43,0	49,69

III. — RESULTATS OBTENUS PAR CETTE METHODE

Nous avons vérifié cette technique par plusieurs séries de dosages, dans lesquels nous avons opéré sur 20 cm³,

10 cm³ et 5 cm³ d'une solution de glucose à 1 0/00 (de taux voisin, par conséquent, de celui du sang). Voici quelques-uns des chiffres obtenus :

SUR 20 ^{mg} DE GLUCOSE		SUR 40 ^{mg} DE GLUCOSE		SUR 8 ^{mg} DE GLUCOSE	
GLUCOSE TROUVÉ	ERREUR 0/0	GLUCOSE TROUVÉ	ERREUR 0/0	GLUCOSE TROUVÉ	ERREUR 0/0
19,98	— 0,1	9,90	— 1	4,98	— 0,4
20,07	+ 0,35	9,94	— 0,6	4,91	— 1,8
20,08	+ 0,4	10,02	+ 0,2	5,06	+ 1,2
20	0	9,97	— 0,3	4,95	— 1
19,95	— 0,25	10,11	+ 1,1	5,03	+ 0,6

CHAPITRE V

Application de la méthode de Lehmann modifiée aux liquides de l'organisme

L'application de cette méthode au dosage de solutions aqueuses de glucose nous ayant donné des résultats satisfaisants, nous avons cherché à l'étendre au dosage des sucres réducteurs dans les liquides de l'organisme, — tout particulièrement dans le sang.

Le dosage ne pouvant s'effectuer que sur des liquides déféqués, nous avons été amené à examiner tout d'abord si les défécants habituels convenaient à cette méthode.

A. — CHOIX D'UNE METHODE DE DEFECATION

Il eut été intéressant d'étudier à ce point de vue la série des défécants indiqués jusqu'à ce jour. Mais cette étude aurait débordé le cadre de notre travail.

Nous nous sommes borné à vérifier si les défécants les plus employés aujourd'hui et reconnus ordinairement, après l'étude de Patein et Dufau [B. 56] comme les meilleurs, — ceux à base de sels mercuriques, — étaient applicables à cette méthode.

Le réactif au nitrate mercurique indiqué par ces

auteurs étant le plus communément employé, nous l'avons étudié en premier lieu.

ESSAI DU NITRATE MERCURIQUE

(*Réactif de Patein et Dufau*) (1) .

Suivant la technique indiquée par Ch.-O. Guillaumin (p. 25) nous avons mélangé à 8 cm³ de plasma sanguin 24 cm³ 5 d'eau et 5 cm³ 3 de réactif. Nous avons neutralisé, filtré et chassé le mercure par agitation de 10 minutes avec de la poudre de zinc.

Sur 20 cm³ de filtrat, correspondant à 4 cm³ de plasma, nous avons essayé le dosage du glucose en appliquant la technique que nous indiquons ci-dessus : réduction, puis addition d'iodure de K, d'acide sulfurique et de sulfo-cyanure de K ; titrage enfin de l'iode libéré au moyen d'hyposulfite N/30.

Nous avons alors constaté que le virage, très net avec les solutions aqueuses de glucose, ne l'était plus ici, — des libérations nouvelles d'iode suivant aussitôt la décoloration par l'hyposulfite et rendant la lecture incertaine.

Nous avons pensé tout de suite que cette libération continue d'iode était due à la présence des nitrates apportés par le réactif de Patein.

Nous fîmes le titrage de notre liqueur cupro-alkaline en présence d'une solution de nitrate de soude : le virage fut

(1) Réactif de Patein et Dufau :

Oxyde rouge de mercure.....	220 gr.
Acide azotique à 40° B (D = 1,39).....	160 cm ³
Lessive de soude au 1/4.....	40 cm ³
Eau distillée, q. s. p ^r	1000 cm ³

net et le résultat concordant avec celui du titrage ordinaire.

La solution sucrée étant traitée, nous l'avons vu, par le zinc en milieu légèrement acide, nous nous sommes alors demandé si l'hydrogène produit dans ces conditions ne pouvait pas agir sur le nitrate resté en solution et le transformer en nitrite : ayant agité avec une pincée de poudre de zinc, en milieu légèrement sulfurique, quelques centimètres cubes d'une solution de nitrate de soude et ajouté au filtrat une solution d'iodure de K, nous avons constaté en effet une libération d'iode. L'iode libéré étant absorbé par l'hyposulfite, il s'en dégagait aussitôt une nouvelle quantité, — phénomène déjà observé lorsque nous avons utilisé de la soude impure renfermant des nitrites.

Force nous est donc de rejeter l'emploi du nitrate mercurique comme défécant, — à moins peut-être de chasser le mercure par un courant d' H^2S .

ESSAI DE L'ACÉTATE MERCURIQUE

On emploie une solution aqueuse saturée d'acétate mercurique. La formule suivante en a été donnée (1) :

Oxyde rouge de mercure.....	10 gr.
Acide acétique cristallisable.....	35 gr.
Eau distillée.....	120 cm ³

Il a l'inconvénient d'être relativement peu stable. A la longue il arrive souvent qu'il se décompose avec formation d'oxyde rouge de mercure.

(1) Formulaire des Hôpitaux militaires.

Ce réactif a été préconisé par Bernier [B. 57], notamment pour le dosage des substances sucrées dans l'urine normale. C'est dans une telle recherche que nous l'avons expérimenté.

A 50 cm³ d'urine nous avons ajouté 25 cm³ de solution saturée d'acétate mercurique; nous avons neutralisé à l'aide d'une solution de soude à 20 %, ramené à légère acidité par quelques gouttes d'acide acétique, complété à 100 cm³ avec de l'eau distillée et filtré. Nous avons chassé le mercure par agitation de 10 minutes avec une pincée de poudre de zinc, puis filtré. Sur 20 cm³ de filtrat, correspondant à 10 cm³ d'urine, nous avons opéré le dosage suivant la technique ci-dessus indiquée. Le virage très net ne fut pas suivi de nouvelle libération d'iode.

Dans l'un de nos essais nous avons trouvé, par exemple, 5 mgr. de sucre dans la prise d'essai, soit 0 gr. 50 par litre.

Sur la même urine, à 30 cm³ de laquelle nous ajoutâmes 20 cm³ de solution de glucose à 5 p. 1.000, soit 100 mgr., un second dosage fut effectué dans les mêmes conditions.

Les 30 cm³ d'urine renfermant, d'après le précédent dosage, 15 mgr. de sucre, les 50 cm³ de liquide en contenaient donc 115 mgr.

Après défécation 20 cm³ du filtrat sur lesquels nous fîmes le dosage devaient en contenir 23 mgr. Or nous n'en trouvâmes que 22 mgr. 1, — soit une perte de 3,9 %.

Ceci semble donc confirmer la remarque de Chelle [B. 59] qui, ayant fait des expériences analogues sur le sang déféqué au réactif de Patein, a constaté, par suite des diverses manipulations, une perte moyenne de glucose

d'environ 6 %. Ce fait est donc commun aux défécants mercuriques, sinon à tous les défécants en général, et n'a aucun rapport avec la méthode elle-même de dosage du sucre.

ESSAI DU SULFATE MERCURIQUE (1)

C'est le défécant qu'emploie G. Bertrand. Nous avons décrit plus haut (p. 20) le mode opératoire indiqué par cet auteur : traitement du sang par l'alcool, filtration, distillation du filtrat et nouvelle défécation du résidu par une solution de sulfate mercurique ; puis élimination du mercure par le zinc.

Nous avons fait subir ce traitement à une prise de sang sur laquelle, une fois déféquée, nous avons opéré le dosage comme ci-dessus.

Le virage fut net, sans recoloration subséquente, et le résultat obtenu concordait avec celui donné par un dosage parallèle par la méthode de Bertrand-Guillaumin.

Un essai sur l'urine, identique à celui que nous avons fait pour l'acétate mercurique, nous révéla une perte en glucose d'environ 6 à 7 %. Ce dernier fait était intéressant à signaler. Mais encore une fois ce n'est pas l'étude de la valeur des défécants pour eux-mêmes que nous voulions faire, mais leur essai par rapport à notre méthode.

Celui-ci fut concluant : le nitrate mercurique, tel qu'on l'emploie habituellement, est à rejeter ; mais le sul-

(1) Cf. formule page 21.

fate et l'acétate mercurique peuvent être également employés.

B. APPLICATION AUX LIQUIDES DE L'ORGANISME

Application au sang :

Nos essais consistèrent en ceci : sur un sang déféqué appliquer simultanément la méthode proposée et une méthode de contrôle, — en l'espèce la méthode de Bertrand-Guillaumin dont nous avons au préalable vérifié la précision.

Pour des dosages en série la défécation selon Bertrand eût été trop longue. Aussi avons-nous supprimé le traitement préalable à l'alcool et employé le sulfate mercurique de la façon suivante :

A 10 cm³ par exemple de sang recueilli sur fluorure (ou, de préférence, au plasma séparé par centrifugation) ajouter goutte à goutte, en agitant, 5 cm³ (c'est-à-dire la moitié du volume du sang) de solution de sulfate mercurique de Bertrand, p. 21). Neutraliser par une solution de soude pure à 20 %, en présence de papier de tournesol. On en emploie ainsi un volume voisin de celui du sulfate mercurique. Ramener à très légère acidité par II ou III gouttes d'acide acétique. Compléter à 40 cm³ avec de l'eau. Filtrer ou centrifuger; le mieux, si l'on possède une trompe à vide, est de filtrer sur entonnoir de porcelaine; la filtration est ainsi faite en quelques secondes et l'on recueille le maximum de liquide. Une goutte de solution de sulfate mercurique ajoutée au filtrat permet de se rendre compte si la défécation est complète.

Le filtrat est alors agité fortement pendant 5 à 10 minutes avec 2 ou 3 grammes de poudre de zinc. On filtre. Une goutte du filtrat déposée sur une lame de cuivre fraîchement décapée ne doit pas laisser de trace grise.

20 cm³ de filtrat sont ajoutés à 20 cm³ de liqueur de Bertrand et l'on poursuit le dosage comme il est indiqué p. 114.

Voici, résumés dans le tableau ci-dessous, quelques-uns des résultats obtenus dans une série de dosages comparatifs effectués sur du sang de bœuf d'abord, puis sur du sang humain. Ces résultats sont exprimés en glucose par litre.

Sang animal	Méthode Bertrand-Guillaumin	Méthode proposée
1° Sang de bœuf.....	0 gr. 75	0 gr. 74
2° Sang de bœuf.....	0 gr. 723	
3° Le même sang.....	0 gr. 725	
4° Sang de bœuf.....	0 gr. 499	0 gr. 509
5° Le même sang défé- qué, dosé après 24 h.	0 gr. 499	
6° Sang de bœuf.....	0 gr. 74	0 gr. 732
7° Sang de bœuf.....	0 gr. 65	0 gr. 65

Sang humain	Méthode Bertrand-Guillaumin	Méthode proposée
1° Sang de femme éclamp- tique	2 gr. 14	2 gr. 15
2° <i>Idem.</i>	0 gr. 716	0 gr. 710
3° Sang de femme enceinte	1 gr. 06	1 gr. 06
4° <i>Idem.</i>	0 gr. 69	0 gr. 67

5°	<i>Idem.</i>	1 gr. 035	1 gr. 05
6°	<i>Idem.</i>	0 gr. 70	0 gr. 70
7°	Sang de femme allaitant	0 gr. 82	0 gr. 84
8°	<i>Idem.</i>	0 gr. 925	0 gr. 92
9°	<i>Idem.</i>	0 gr. 62	0 gr. 62
10°	<i>Idem.</i>	1 gr. 20	1 gr. 18

Les résultats obtenus par les deux méthodes sont, comme on le voit, pratiquement concordantes. La méthode proposée, plus simple que celle de Bertrand-Guillaumin, et aussi précise, sera donc utilisée avec avantage pour le dosage du sucre du sang.

Comme pour la méthode de Guillaumin, 8 à 10 cm³ de sang environ sont nécessaires.

Application à l'urine :

Nous avons exposé ci-dessus (p. 122), à propos de l'aissai de l'acétate et du sulfate mercurique, la technique de défécation employée pour l'urine.

Les résultats obtenus dans ces essais nous ont montré que la méthode était applicable au dosage de petites quantités de sucre urinaire.

Une urine renfermant une forte proportion de glucose pourrait aussi, diluée convenablement, être dosée par cette méthode. Si le taux du glucose est par exemple de 10 à 50 grammes par litre, soit 10 à 50 mgr. par cm³, on dilue l'urine au 1/10; on réduit proportionnellement la quantité de défécant à employer; on complète après défécation le liquide au double de son volume et, sur 20 cm³ de filtrat renfermant 10 à 50 mgr. de glucose on opère la réduction et le dosage.

Application au dosage du lactose dans le lait :

Le dosage polarimétrique du lactose dans le lait de femme n'étant pas possible, on utilisera avec avantage la méthode que nous proposons.

La défécation se fera suivant la technique de Bertrand (p. 21) : à 50 cm³ de lait dilué au 1/10 ajouter 5 cm³ de solution de sulfate mercurique. Neutraliser; acidifier légèrement par 2 à 3 gouttes d'acide acétique. Compléter à 100 cm³. Filtrer. Chasser le mercure. 20 cm³ de filtrat correspondent à 10 cm³ de lait dilué, c'est-à-dire à 1 cm³ de lait pur dont la teneur moyenne en lactose est de 70 mgr.

Une table de correspondance pour le lactose n'ayant pas été établie pour les conditions dans lesquelles nous opérons sur le glucose, on utilisera la table de Bertrand (qui se trouve dans tous les livres classiques), en adoptant la technique suivante :

A 20 cm³ de filtrat seront ajoutés 20 cm³ de solution A et B de Bertrand, dans un ballon en verre d'Iéna de 150 à 180 cm³ de capacité, et le mélange porté rapidement à l'ébullition qu'on maintiendra 3 minutes exactement. On refroidira sous un courant d'eau, sans agiter. On ajoutera alors 2 à 3 cm³ de solution d'iodure de K à 20 %, 20 cm³ d'acide sulfurique à 20 % et 15 à 20 cm³ de sulfocyanure de K à 20 %.

La précision de ce dosage n'ayant pas besoin d'être aussi rigoureuse que pour le dosage du sucre du sang, par exemple, on pourra titrer l'iode libéré au moyen d'une solution d'hyposulfite N/10. Si on a employé n cm³ d'hypo-

sulfite pour ce titrage et $N \text{ cm}^3$ pour le titrage préalable de l'iode libéré par 40 cm^3 de liqueur cupro-alkaline, on aura en milligrammes le cuivre réduit en appliquant la formule $(N-n) \times 6,35$, et le lactose contenu dans la prise d'essai en se reportant à la table de Bertrand.

RESUME ET CONCLUSIONS

De notre étude de ces quelques méthodes de dosage des sucres réducteurs choisies, comme nous paraissant les plus intéressantes, parmi celles décrites dans la première partie de notre travail, nous retenons ceci .

1° La méthode de Folin et Wu, employée selon la technique indiquée par ses auteurs, nous a paru donner des erreurs notables dues à la fois :

a) Au fait que l'on compare des quantités trop différentes ;

b) A la non-proportionnalité entre le sucre et le cuivre réduit (montrée par Ch.-O. Guillaumin) ;

c) A l'instabilité, que nous avons établie, de la matière colorante.

2° Les deux premières de ces sources d'erreur se retrouvent dans la méthode de Fontès et Thivolle. Mais dans cette dernière méthode, contrairement à ce qu'on pourrait croire, l'instabilité de la matière colorante, que nous attribuons à un état colloïdal du corps formé, n'a pas d'influence marquée sur la quantité de permanganate absorbée.

Pour l'une et l'autre de ces méthodes, si l'on veut obtenir des résultats précis, nous conseillons donc de n'opérer que sur des liquides sucrés de taux très voisins, c'est-à-dire de déterminer, par un dosage préalable, l'étalon à employer.

Les chances d'erreur étant d'ailleurs d'autant plus grandes que l'on opère sur des quantités de sucre plus petites, il nous paraît bon de ne pas descendre, dans la pratique courante, au-dessous du milligramme.

3° La méthode de Lehmann modifiée par Bruhns, Schoorl et Kolthoff a été étudiée par nous au point de vue du mécanisme de la réaction. Nous avons fait une étude expérimentale de l'action de l'iodure et du sulfocyanure de potassium sur l'oxydure et le sulfate de cuivre pour tenter d'expliquer la « stabilisation » de l'oxydure et la netteté du virage. Nous avons montré que :

a) La « stabilisation » de l'oxydure est due à sa transformation en iodure cuivreux, transformation dont nous avons précisé les conditions;

b) Dans l'action de l'iodure et du sulfocyanure de potassium sur le sulfate de cuivre, ces deux sels interviennent pour déplacer l'équilibre et qu'il se forme toujours un mélange, en proportions variables, d'iodure cuivreux et de sulfocyanure cuivreux par suite du déplacement réciproque de ces deux corps.

Cette méthode nous a semblé présenter les avantages suivants :

a) Son exactitude est comparable à celle de la méthode de Bertrand;

b) Elle n'utilise que des solutions d'usage courant dans les laboratoires ;

c) Elle ne nécessite aucune manipulation compliquée, aucun appareillage coûteux, — d'où une plus grande simplicité et une plus grande rapidité d'exécution.

Elle peut être couramment employée avec précision pour les quantités de sucres comprises entre 2,5 et 40 milligrammes.

Aussi, après lui avoir fait subir quelques modifications, nous l'avons appliquée avec des résultats satisfaisants au dosage des sucres réducteurs dans les liquides de l'organisme (sang, urine, lait).

Vu: Bon à imprimer :

Le Président de Thèse,
L. GRIMBERT.

Vu et PERMIS d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris
APPELL.

Vu

Le Doyen,
H. GAUTIER.

BIBLIOGRAPHIE

1. R. CLOGNE et A. RICHAUD. — *A propos de l'emploi du fluorure ou du citrate de soude comme agents anti-coagulants dans le dosage du sucre du sang* (Bull. Soc. Ch. Biol., III, 1921).
2. AMBARD. — *Arrêt de la glycolyse par un mélange de fluorure de sodium et de phosphate monopotassique* (Bull. Soc. Ch. Biol., II, 202-1920).
3. M.-J. — *Le glucose et sa détermination quantitative dans les liquides physiologiques* (Biol. médic., XII-367-1921).
4. E. PÉLIGOT. — *Nouveau moyen saccharimétrique* (de Barreswill) (J. Ph. Ch., 3^e série, VI-301-1844).
5. J. GUIART et L. GRIMBERT. — *Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique*, 1 vol., 1922 (Lamarre, édit.).
6. FEHLING. — *Die quantitative Bestimmung von Zucker und Starkmehl mittelst Kupfervitriol* (Ann. Chem. Pharm., LXXII-106-1849).
7. FEHLING. — *Die quantitative Bestimmung von Zucker* (Ann. Ch. Ph., CVI-75-1858).
8. F. MOHR. — *Ueber Traubenzuckerbestimmung auf das Kupferoxydul bezogen* (Z. Anal. Chem., XII-296-1873).
9. G. BERTRAND. — *Le dosage des sucres réducteurs* (Bull. Soc. Chim., XXXV-1285-1906).
10. G. BERTRAND et THOMAS. — *Guide pour les manipulations de chimie biologique*, 1 vol., Dunod et Pinat, édit.
11. DE SAINT-RAT et RONFAUT. — *Sur le dosage de petites quantités de sucres réducteurs* (Bull. Sc. pharm., XXVII-289-1920).

12. CH.-O. GUILLAUMIN. — *Sur le dosage de petites quantités de sucres réducteurs :*
I. *Technique du dosage de précision* (J. Ph. Ch., 7^e série, XXII-327-1920).
13. II. *Etude critique d'une microméthode de Folin et Wu* (J. Ph. Ch., XXII-378-1920).
14. L. AMBARD. — *Modification à la méthode de Bertrand pour la rendre applicable au dosage de petites quantités de sucre* (Bull. Soc. Ch. Biol., II-203-1920).
15. HUGH MACLEAN. — *The estimation of sugar in the blood* (Biochem. J., XIII-135-1919).
16. SHAFFER et HARTMANN. — *The iodometric determination of copper and its use in sugar analysis* (J. of Biol. Chem., VI-349 et 365-1920).
17. IVAR BANG. — *Über die Microbestimmung des Blutzuckers* (Bioch. Zeit., T. 87-248-1918).
18. I. BANG. — *Der Blutzucker*, 1 vol., Wiesbaden, 1913-20.
19. R.-H.-A. PLIMMER. — *Practical organic and bio-chemistry*, 1 vol., 1920.
20. O. FOLIN et H. WU. — *A system of blood Analysis* (J. of Biol. Chem., T. 38, p. 81-1918, et T. 41, p. 367-1920).
21. R. DELABY. — *Les méthodes de Folin et Wu pour le dosage des éléments azotés et du sucre dans le sang* (Bull. Sc. Pharm., XXVII-158 et 372-1920).
22. H.-F. HÖST et R. HATLEHOL. — *Blood sugar concentration and blood sugar methods* (J. Biol. Chem., XLII-347-1920).
23. DERRIEN et FONTÈS. — *Remarques sur le dosage colorimétrique du glucose dans de faibles quantités de sang* (Bull. Soc. Chim., XXVII-327-1920).
24. BORDE. — *Sur le dosage du glucose dans le sang par la méthode de Folin et Wu* (Bull. Soc. Pharm. de Bordeaux, IV-214-1920).
25. G. FONTÈS et L. THIVOLLE. — *Méthode de microdosage manganimétrique du glucose* (Bull. Soc. Chim. Biol., III-226-1921).
26. GOIFFON et NEPVEUX. — *Méthode microchimique de*

- dosage du sucre dans les liquides de l'organisme* (J. Pharm. Ch., xxi-357-1920).
27. BAUZIL et BOYER. — *Sur le dosage du glucose dans le sang* (J. Ph. Ch., xvi-171-1917).
28. H. LABBÉ, F. NEPVEUX et MÉNÉLAS NOMIDIS. — *Etude critique de la méthode de Bang* (Communic. à la Soc. de Pharm., février 1922).
29. PAUL FLEURY. — *Réflexions sur la colorimétrie* (Commun. à la Soc. de Ch. Biol., 7 mars 1922).
30. MAKI TAKATA. — *Unter suchungen über die Vereinfachung der colorimetrischen Methode durch Verwendung von Farbstoffen* (Ch. Zentr., 1921-iv, p. 1198, d'après : Journ. of exp. med., 1-460-1920, Tohoku).
31. K.-B. LEHMANN. — *Neue Zucker bestimmungsmethode* (Ch. Zentr., 1897-ii, p. 233, d'après : Stzg. d. phys. med. Ges. Würzburg).
32. E. RIEGLER. — *Ein neues titrimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Zuckers* (Zeit. anal. Chem., xxxvii-22-1898).
33. DE HAEN. — (Ann. der Chem. und Ph., xci-237-1854) in :
34. FRESSENIUS. — *Traité d'analyse chimique*, Edit. française, Masson, édit.
35. GARNIER. — *Dosage volumétrique de la glucose. Modification du procédé Haen-Lehmann* (J. Ph. Ch. [6] ix-326-1899).
36. L. GRIMBERT. — *Dosage des sucres réducteurs par la méthode de Lehmann* (J. Ph. Ch. [7] vii-105-1913).
37. MAQUENNE. — *Sur le dosage du glucose par la méthode de Lehmann* (Bull. Soc. Chim., xix-926-1918).
38. G. BRUHNS. — *Messung des Kupfers mittels Rhodankalium, Jodkalium und Thiosulfat* (Chem. Zeit., xlii-301-1918).
39. — *Quantitative Kupfer, und bezw. Zucker bestimmung* (Ch. Zentr., 1919-ii, p. 182, d'après : Apath. Zeit, 33-473-1918).
40. — *Idem.* (Ch. Zentr., 1919-ii, p. 595, d'après : Ztschr. f. angew. Ch. xxxi-246-1918).
41. — *Bestimmung des Invertzuckers mit Hilfe von SCNK*

- und IK. (Ch. Zentr., 1920-II, p. 18, d'après : Zentr. f. Zuckerind., xxvii-767-1920).
42. — *Messung des Kupfers (insbesondere bei Zuckerbestimmung) mit Hilfe von SCNK und KI* (Ch. Zentr., 1921-II, p. 507, et Zeit. f. Anal. Ch., LIX-337-1920).
43. — *Weitere Erfahrungen mit der Kupferbestimmung nach der Jodkalium verfahren* (Ch. Zentr., 1921-II, p. 508, d'après : Zentralblatt für Zuckerind. xxix-34 et 84-1920).
44. — *Tafel für die Bestimmung von Dextrose, Invertzucker und Lävulose* (Ch. Zentr., 1921-IV, p. 475, d'après Chem. Ztg., XLV-486-1921).
45. — *Tafeln der Kupfer ausscheidung aus Fehlingscher Lösung bei dem Kochen mit Dextrose, Invertzucker und Lävulose* (Ch. Zentr. 1921-IV, p. 598, d'après : Zentr. f. Zuckerind, xxix-859-1921).
46. SCHOORL und I.-M. KOLTHOFF. — *Quantitative Zuckerbestimmung* (Ch. Zentr. 1917-II, p. 832, d'après Pharm. Weekblad., LIV-949-1917).
47. — *Idem.* (Ch. Zentr., 1918-II, p. 477, d'après Pharm. Weekbl., LV-344-1918).
48. I.-M. KOLTHOFF. — *Die jodometrische Kupferbestimmung* (Ch. Zentr., 1919-II, p. 321, d'après Pharm. Weekbl., LV-1338-1918).
49. — *Messung des Kupfers mit SCNK und KI* (Ch. Zentr., 1919-II, p. 322, d'après Chem. Ztg., XLII-609-1918).
50. PAUL FLEURY. — *Action de l'iode sur l'acide arsénieux et ses dérivés phénylés* (Thèse de Pharm., Paris, 1920).
51. RASCHIG. — *Über eine neue Methode Schwefelsäure zu bestimmen* (Zsch. f. angew. Chem., xvi-617 et 818-1903).
52. GAUVIN et SKARZINSKY. — *Dosage du soufre dans les liquides biologiques* (Bull. Soc. Chim. [4^e série], XIII-1121-1913) (et Bull. des Sc. Pharm., XXI-341-1914).
53. L. CORDIER. — *Le soufre urinaire. Etude dosimétrique* (Thèse de Pharmacie, Paris, 1918).
54. J. WOLFF. — *Contamination of much used reagents* (Z. deut. Oel. Fett. Ind., XLI-195-1921).

55. WOLFF et FERNBACH. — *De quelques circonstances qui influent sur l'état physique de l'amidon* (Ac. Sc., 140-1403-1905).
 56. PATEIN et DUFAU. — *De l'emploi du nitrate acide de mercure dans l'analyse des liquides sucrés* (J. Ph. Ch. xv-221-1902).
 57. R. BERNIER. — *Sur la présence de l'acide glycuronique et de certains hydrates de carbone dans l'urine normale* (Thèse de Paris, 1910).
 58. GILBERT et BAUDOUIN. — *Les hydrates de carbone de l'urine normale* (Paris-Médical, n° 28, 12 juillet 1919, p. 29).
 59. CHELLE. — *Dosage clinique des hydrates de carbone et de l'acide lactique du sang* (Bull. Soc. Ph. Bordeaux, LIV-193-1914).
 60. R. CLOGNE et L. BOUTOT. — *Recherche et dosage des matières sucrées dans les liquides de l'organisme* (Pharmacie Française, xxv-279 et 304-1921).
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	9
--------------------	---

Première partie.

DESCRIPTION DES PRINCIPALES MÉTHODES

Préparation du liquide à doser.....	13
Classification des méthodes.....	14
Méthodes basées sur la réduction de liqueurs cupro- alcalines	16
Choix d'une ou de plusieurs de ces méthodes.....	44

Deuxième partie.

ETUDE DE LA MÉTHODE DE FOLIN ET WU

ET DE SES MODIFICATIONS

Chap. I. — Etude de la méthode de Folin et Wu.....	49
Chap. II. — Etude de la méthode de Fontès et Thivolle.	59
Chap. III. — Conclusions.....	67

Troisième partie.

ETUDE DE LA MÉTHODE DE LEHMANN

ET DE SES MODIFICATIONS

Chap. I. — Exposé de la méthode et de ses modifica- tions	69
--	----

Chap. II. — Etude expérimentale de l'action de l'iodure et du sulfocyanure de potassium sur l'oxydure et le sulfate de cuivre.....	83
Chapitre III. — Résultats comparatifs obtenus avec les- méthodes type Lehmann.....	103
Chap. IV. — Adaptation de la méthode de Lehmann modifiée à la détermination de petites quantités de sucres réducteurs.....	109
Chap. V. — Application de la méthode de Lehmann modifiée aux liquides de l'organisme.....	119
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.....	129
BIBLIOGRAPHIE	132

Imprimerie spéciale de la Librairie LE FRANÇOIS
91, boulevard Saint-Germain, Paris.
